

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI
TANAH KAMPUS 2 UIN ALAUDDIN
SAMATA/KABUPATEN GOWA**



Skripsi

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar**

Oleh

DEVI SEPTIVIANI

NIM. 60300107020

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR

2011

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penyusun yang bertandatangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusun sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Agustus 2011
Penulis

DEVI SEPTIVIANI

NIM: 60300107020



PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul, “**Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotik dari Tanah Kampus 2 UIN Alauddin Samata/Kabupaten Gowa**”, yang disusun oleh **Devi Septiviani** NIM: 60300107020, mahasiswa Jurusan Sains Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari , tanggal 2011 , dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Makassar, Agustus 2011

DEWAN PENGUJI:

Ketua : Dr. Muhammad Halifah Mustami, M.Pd (.....)
Sekretaris : Ir. Syarif Beddu, M.T (.....)
Munaqisy I : Drs. Sulaiman Gossalam, M.Si (.....)
Munaqisy II : Mashuri Masri, S.Si., M.Kes (.....)
Munaqisy III : Drs. M. Arif Alim. M.Ag (.....)
Pembimbing I : Fatmawati Nur S.Si, M.Si (.....)
Pembimbing II : Hafsah, S.Si, M.Pd (.....)

Diketahui oleh:
Dekan Fakultas Sains Dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Dr. Muh. Khalifah Mustami, M.Pd.
NIP. 19710412200003 1 023

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Allah Yang Maha Kuasa, karena atas berkat dan rahmat Nyalah sehingga penulis skripsi yang berjudul **“Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotik Dari Tanah Kampus 2 UIN Alauddin Samata/Kabupaten Gowa”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri dan terselesaikan sebagaimana mestinya.

Penulis menyadari bahwa penulis skripsi ini dapat terselesaikan berkat bimbingan, petunjuk dan bantuan yang bersifat moril maupun material dari berbagai pihak. Olehnya itu pada kesempatan ini perkenankanlah penulis menghaturkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibu Fatmawati Nur Khalik, S.Si, M.Si Sebagai pembimbing utama, Ibu Hafsan, S.Si, M.pd Sebagai pembantu pembimbing. Juga terima kasih yang setulusnya kepada Bapak Drs. M. Arif Alim, M.Ag, Bapak Mashuri Masri, S.Si.,M.Kes dan Bapak Drs. Sulaiman Gossalam, M.Si selaku dosen penguji yang telah banyak memberi saran dalam penyusunan skripsi ini.

Tidak lupa pula penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. kepada Ayahanda Heri Siswanto dan Ibunda Esih kurniasih serta seluruh keluarga yang tercinta, yang telah memberikan perhatian, dorongan dan bantuan

moril maupun materi yang sangat berharga serta doa yang tiada henti-hentinya yang di tujukan kepada saya sehingga skripsi ini dapat penulis rampungkan.

2. Prof. DR. H. Qadir Gassing, HT. MS selaku Rektor UIN Alauddin Makassar.
3. DR. Muhammad Khalifah Mustami., M. Pd selaku Dekan Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. Bapak pembantu Dekan bidang I, II, III, Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.
5. Fatmawati Nur Khaliq, S.Si., M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
6. Hafsan S.Si., M.Pd selaku sekretaris Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
7. Bapak//Ibu dosen dan seluruh staf Karyawan Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
8. Bapak/Ibu dan seluruh staf Balai Besar Industri Hasil Pertanian Makassar (BBIHP) Makassar.
9. Kakak-kakak Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar (BBLK) terkhusus untuk (K' Tendri dan K' Ikha) yang telah memberikan arahan serta ilmu selama berlangsungnya penelitian ini.
10. Laboran Mikrobiologi UIN (Kurniati S. Si dan K' Iwan S. Si).
11. Kakanda angkatan 2005 (Ali Malaka S.Si, AR. Syarif Hidayat S.Si, Hasyimmuddin S.Si, Astrianai S.Si, Rahmi Nur S.Si, Sarah Shakina S.Si, Hasrianti S.Si, Haniah S.Si, Nurjannah S.Si, Ummi Aminah S.Si, Fenti

Restiantiasih Muid S.Si, Suhaeni S.Si) dan Kakanda angkatan 2006, adik-adik angkatan 2008, 2009 dan 2010.

12. Teman-teman jurusan Biologi angkatan 2007 (Siti. Asriati, Reskianti, Andi Indra Ayu, Andi Ernawati, Andi Sri Wahyuni, Andi Reski Ferawati, Nurkomariah, Lisdawati, Ernawati, Sakia Bakri, Megawati Bohari, Muliati, Hasnah, St. Aisyah, Jumriani, Ka'bah, Zulkarnain, Abd. Wahab Hadada, Muh. Aryan R. Suci, Rusmadi Rukmana, Firmansyah, Muh. Said, Hasrul) atas segala kebersamaan, suka duka, dan pengalaman hidup yang takkan terlupakan.
13. Teman-teman GameFig Crew (Ifha, Anggung, Nurfit, Maya, Indri, Ilha, Hasdah, Uppi, Nurul, Idha, Ammy, Nhana, Ditha, Dewi, Risma, Bella, Nabila, Reny, Ijha, Zulfi, Zupleq dan teman-teman GF lain yang tidak sempat saya sebutkan satu persatu).
14. Bapak dan Ibu Desa Tanah Bangka beserta teman-teman KKN (Idha, Ningsih, Ismi, Opu, Ulfa, Mukhlis, Zaka, Adit, Busran, Sirajuddin).
15. Teman-teman kost (K' Mala S.Pd, K' Anhi S.Farm, Jumrah, Ridwan, Adhy, Aris) terima kasih untuk kebersamaan kalian selama ini sebagai tempat berbagi suka cita.
16. Terakhir untuk Muh. Sabaruddin Ansari yang telah memberi dukungan, support dan motivasi dalam menyusun skripsi ini.
17. Kepada semua pihak yang telah mendukung yang tidak dapat disebutkan namanya satu perastu, penulis mengucapkan terima kasih semoga dukungan dan do'a kepada penulis dibalas oleh Allah SWT.

Skripsi ini disusun dengan segala kemampuan dan keterbatasan yang ada pada penulis, namun mungkin masih banyak dijumpai kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Dengan senang hati penulis menerima kritikan berupa saran dan petunjuk untuk kesempurnaannya.

Akhir kata semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dan kemajuan IPTEK dimasa-masa akan datang dan kepada semua pihak yang berkenan membacanya. Semoga Allah SWT meridhoi kita semua, Amin Ya Rabbal Alamin.

Wassalam

Makassar, Agustus 2011

Penulis

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R
DEVI SEPTIVIANI
NIM : 60300107020

ABSTRAK

Nama Penyusun : Devi Septiviani
NIM : 60300107020
Judul Skripsi : Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotik dari Tanah Kampus 2
UIN Alauddin Samata/Kabupaten Gowa

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui mikroba yang dapat menghasilkan antibiotik dari tanah lapangan kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa. Penelitian ini menggunakan metode tuang pada medium Nutrien Agar dan Potato Dextrosa Agar dengan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} . Identifikasi isolate dilakukan dengan pengecatan gram. Dimana hasil yang diperoleh adalah isolat DA₂ dan DA₃ termasuk bakteri gram positif berbentuk bulat dan isolat DA₁ termasuk bakteri gram positif berbentuk batang. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat yang menunjukkan aktivitas terbaik adalah isolat DA₁, DA₂, dan DA₃. Sedangkan isolate jamur yang memberikan aktivitas adalah isolat JA₁. Isolat mikroba dimurnikan dengan metode gores menggunakan medium selektif Blood Agar untuk bakteri gram positif dan Mac Conkey Agar untuk bakteri gram negatif. Isolat aktif di fermentasi menggunakan medium Maltosa Yeast Broth. Pengujian aktifitas antimikroba dengan metode difusi agar. Berdasarkan hasil pengujian terdapat 3 isolat bakteri yang menghasilkan antibiotik. Isolate DA₁ adalah *Bacillus sp*, isolat DA₂ *Enterobacter sp*, *Acinetobacter sp* dan untuk jamur yaitu *Penicillium sp*.

Kata kunci : *Isolasi, Mikroba Tanah, Antibiotik*

ABSTRAK

Nama Penyusun : Devi Septiviani
NIM : 60300107020
Judul Skripsi : Isolation of microbial antibiotic-producing from soil of
UIN Alauddin Campus in Samata/Gowa regency

This research is a relative research was aimed at finding out which microbe can produce antibiotic from the field soil of campus 2 UIN Alauddin Samata, Gowa Regency. This research used pour method on the jelly nutrient and jelly pour medium of potato dextrose with rinsing process from 10^{-1} to 10^{-5} . Identification of isolate was done by gram staining. Involved in the positive gram bacteria in round shape and DA, isolate involved positive gram bacteria in the steam shape. The result of this research showed us that isolate that perform while the best activity is DA₁, DA₂, and DA₃ isolate. While, mushroom isolate that giving activity is JA, isolate. Microbe isolate was purified by streak method. Using medium of jelly selective blood for positive gram bacteria and jelly MacConkey for Negative gram. Active isolate was fermented using maltose Yeast Broth medium. Testing of antimicrobial activity using jelly diffusion method. According to the result of testing, there were 3 bacteria isolate which produce antibiotic, DA₁ isolate were *Bacillus sp*, DA₂ isolate *Enterobacter sp*, DA₃ *Acinetobacter sp* and for the mushroom is *Penicillium sp*.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	 1-5
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan dan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 6- 31
A. Tanah	6
B. mikroba Tanah.....	8
C. Antibiotika.....	16
D. Uji Antibiotika	20
E. Pengecatan Gram	23
F. Uji Biokimia.....	26
G. Uraian Mikroba Uji.....	29
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 32-39
A. Jenis Penelitian.....	32
B. Variable Penelitian.....	32
C. Definisi Operasional Variabel.....	32
D. Ruanglingkup dan Batasan Penelitian	32
E. Alat dan Bahan	33
1. Alat.....	33
2. Bahan	33
F. Cara Kerja.....	34
1. Sterilisasi Alat.....	34
2. Pembuatan Medium.....	34
3. Pengambilan dan Penyiapan Sampel	35

4. <i>Penyiapan Mikroba Uji</i>	37
5. <i>Pengujian Aktivitas Antibiotik</i>	37
6. <i>Identifikasi Morfologi Secara Makroskopik</i>	37
7. <i>Identifikasi Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram</i>	38
8. <i>Pengujian Aktivitas Biokimia</i>	38
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40-56
A. <i>Hasil Penelitian</i>	40
B. <i>Pembahasan</i>	42
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	52
A. <i>Kesimpulan</i>	52
B. <i>Saran</i>	52
 DAFTAR PUSTAKA	53-54
LAMPIRAN-LAMPIRAN	55-68
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Hasil Pengukuran Zona Hambat Fermentat Isolat Bakteri Terhadap Mikroba Uji	62
Tabel 2	Hasil Pengukuran Zona Hambat Fermentat Isolat Jamur Terhadap Mikroba Uji	63
Tabel 3	Hasil Pemurnian Isolat Mikroba Tanah	64
Tabel 4	Hasil Pengecatan Gram Mikroba Tanah	65
Tabel 5	Hasil Pengujian Aktifitas Biokimia Mikroba.....	66



DAFTAR GAMBAR

1.Histogram Zona Hambat dari Jamur.....	67
2.Histogram Zona Hambat dari Bakteri.....	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Isolat mikroba dari tanah pada medium Agar (NA).....	55
2. Isolat mikroba pada medium PDA.....	55
3. Pemurnian mikroba pada medium selektif.....	56
4. Isolat murni pada medium agar miring dan metode kuadran.....	56
5. Isolat pada medium MYB untuk Bakteri.....	57
6. Isolat pada medium MYB untuk Jamur.....	57
7. Hasil pengujian daya hambat pada hari 1 (1 x 24 jam) untuk Bakteri.....	58
8. Hasil pengujian daya hambat pada hari 2 (2 x 24 jam) untuk Bakteri.....	58
9. Hasil pengujian daya hambat pada hari 3 (3 x 24 jam) untuk Bakteri.....	59
10. Hasil pengujian daya hambat pada hari 1 (1 x 24 jam) untuk Jamur.....	60
11. Hasil pengujian daya hambat pada hari 2 (2 x 24 jam) untuk Jamur.....	60
12. Hasil pengujian daya hambat pada hari 3 (3 x 24 jam) untuk Jamur.....	60
13. Hasil pengujian Biokimia isolat dari Tanah.....	61
14. Hasil pengukuran zona hambat.....	62-63
15. Skema kerja isolasi mikroba penghasil antibiotik dari tanah.....	69



Pembimbing penulis skripsi Saudari **Mutmainnah Abdullah** NIM: 70100105036, mahasiswa Jurusan Farmasi pada Fakultas Ilmu kesehatan UIN Alauddin Makassar, setelah dengan seksama meneliti dan mengoreksi skripsi yang bersangkutan dengan judul, “ Isolasi dan Karakterisasi Mikroba Penghasil Antibiotika Dari Air Laut Asal Solor Kabupaten Flores Timur, memandang bahwa skripsi

tersebut telah memenuhi syarat – syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke sidang *munaqasyah*.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, 29 Desember 2009

Rusli, S.Si., M.Si., Apt.
NIP :
Pembimbing

Grmy Nastity Handayani, S.Si., M.Si., Apt.
NIP :
Pembantu pembimbing



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi masih menempati urutan teratas penyebab penyakit dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Bagi penderita, selain menyebabkan penderitaan fisik, infeksi juga menyebabkan penurunan kinerja dan produktifitas, yang pada gilirannya akan mengakibatkan kerugian materiil yang berlipat-lipat. Bagi Negara, tingginya kejadian infeksi di masyarakat akan menyebabkan penurunan produktivitas nasional secara umum, sedangkan di lain pihak menyebabkan peningkatan pengeluaran yang berhubungan dengan upaya pengobatannya ¹.

Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, maupun jamur. Penularannya tidak hanya tergantung pada sifat dan adanya reservoir, namun juga pada rute dan mekanisme bagi agen infeksi mencapai hospes barunya. Ada empat jalan utama masuk ke tubuh manusia, yaitu melalui saluran napas, saluran cerna, kulit dan mukosa, dan secara parenteral ².

¹Alimuddin Ali, *Mikrobiologi Dasar* (Cet. 1; Makassar: Badan Penerbit UNM, 2005), h. 23.

²M. Natsir, Djide dan Sartini, *Mikrobiologi Klinik* (Makassar : Fakultas Farmasi Unhas. 2010), h. 244.

Pengobatan utama infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah antibiotik. Namun pada perkembangannya, banyak bakteri yang mengalami resistensi terhadap antibiotik. Hal ini terjadi karena ternyata bakteri lama kelamaan dapat mengubah dirinya (resisten) sehingga dapat bertahan terhadap antibiotik yang menyerang³.

Bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik dapat dipicu oleh penggunaan obat yang tidak rasional. Sebagian orang sering menggunakan antibiotik tidak sesuai ketentuan, baik itu berupa penggunaan yang tidak tuntas ataupun penggunaan tanpa dasar pemeriksaan yang jelas. Akibatnya banyak muncul bakteri yang kebal antibiotik sehingga penyakit menjadi sulit disembuhkan⁴.

Antibiotik adalah segolongan senyawa, baik alami maupun sintetik, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, yang berasal atau didapat pada mikroorganisme seperti yang dilakukan oleh Jamaludin pada tahun 1993 yang berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba tanah (*Streptomyces*) penghasil antifungi pada beberapa tempat di Sulawesi Selatan. Kemudian Hasnawati pada tahun 2001, mengisolasi dan mengidentifikasi lima jenis mikroba dari tanah asal Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji.

³*Ibid.*, h. 259.

⁴M. Natsir, Djide dan Sartini, *Mikrobiologi klinik* (Makassar: Fakultas Farmasi Unhas. 2010), h. 244.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa bakteri yang paling banyak menghasilkan antibiotik adalah *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus* dan *Rhizopus sp*, sedangkan untuk golongan jamur yaitu Actinomycetes, yang mana dari beberapa literatur menggolongkan jamur tersebut menjadi dua yaitu *Penicillium sp* dan *Streptomyces sp*⁵.

Sumber mikroorganisme penghasil antibiotika antara lain berasal dari tanah, air laut, lumpur, kompos, isi rumen, limbah domestik, bahan makanan busuk dan lain-lain. Namun kebanyakan mikroba penghasil antibiotik diperoleh dari mikroba tanah terutama streptomises dan jamur⁶.

Ketergantungan manusia terhadap tanah ditegaskan Allah SWT, dalam firman-firman-Nya baik dalam Taurat dan Injil maupun dalam Alquran yang diturunkan pada 1.400 tahun yang lalu sebagai berikut :

قَالَ فِيهَا تَحْيَوْنَ وَفِيهَا تَمُوتُونَ وَمِنْهَا تُخْرَجُونَ ﴿٢٥﴾

Allah berfirman: "Di bumi itu kamu hidup dan di bumi itu kamu mati, dan dari bumi itu (pula) kamu akan dibangkitkan".(QS Al-A'raaf:25)⁷.

⁵ Helmi arifia, " Isolasi Bakteri Dan Jamur Penghasil Antibiotik " (10 Desember 2010).

⁶Usman Suwandi, "Mikroorganisme Penghasil Antibiotik", [http:// www.kalbe Farma.com](http://www.kalbe Farma.com) (25 Oktober 2010).

⁷ Departemen Agama R.I., *Al-Qur'an dan Terjemahnya* (Syaamil Al-Qur'an), h. 121.

﴿ مِنْهَا خَلَقْنَكُمْ وَفِيهَا نُعِيدُكُمْ وَمِنْهَا نُخْرِجُكُمْ تَارَةً أُخْرَى ﴾

“ Dari bumi (tanah) Itulah kami menjadikan kamu dan kepadanya kami akan mengembalikan kamu dan daripadanya kami akan mengeluarkan kamu pada kali yang lain”.(QS Thaha:55)⁸.

Tanah dipandang sebagai permukaan lahan di atas bumi yang menyediakan substrat bagi kehidupan tumbuhan dan hewan. Ada beberapa lingkungan di bumi ini yang mengandung sedemikian banyak ragam mikroorganisme seperti yang terkandung dalam tanah subur. Bakteri, cendawan, alga, protozoa, dan virus secara bersama membentuk kumpulan mikroorganisme yang dapat mencapai jumlah total sampai bermiliar-miliar organisme per gram tanah⁹.

Mikroorganisme di alam dapat diperoleh dalam bentuk tunggal, tetapi pada umumnya selalu dalam bentuk populasi campuran, baik yang mempunyai hubungan kerabat maupun tidak. Sehingga untuk memperoleh mikroorganisme yang akan digunakan sebagai bahan dalam penelitian dibutuhkan isolasi mikroorganisme pada lokasi yang diperkirakan menjadi habitat dari

⁸ Departemen Agama R.I., *Al-Qur'an dan Terjemahnya* (Syaamil Al-Qur'an), h. 251.

⁹ Koes Irianto, *Mikrobiologi; Mengungkap Dunia Mikroorganisme* (Cet. 1; Bandung: CV. Yrama Widya, 2006), h. 140.

mikroorganisme tersebut dan mempunyai peranan yang cukup penting pada lingkungan tersebut ¹⁰.

B. Rumusan Masalah

Mikroba apa saja yang dapat menghasilkan antibiotik dari tanah lapangan asal kampus 2 UIN Alauddin Samata kabupaten Gowa ?

C. Tujuan dan Penelitian

Untuk mengetahui mikroba yang dapat menghasilkan antibiotik dari tanah lapangan asal kampus 2 UIN Alauddin Samata kabupaten Gowa.

D. Manfaat Penelitian

1. Untuk menambah data ilmiah mikroorganisme dari antibiotik yang berasal dari tanah Lapangan Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa.
2. Sebagai sumber rujukan atau acuan bagi peneliti selanjutnya.

¹⁰Jan Tambayong, *Mikrobiologi Untuk Keperawatan* (Jakarta: PT.Widya Medika,1999), h. 19-21

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanah

Tanah dapat dipandang sebagai permukaan lahan diatas bumi yang menyediakan substrat bagi kehidupan tumbuhan dan hewan¹. Tanah merupakan suatu sistem yang ada dalam suatu kesatuan dinamis dengan lingkungannya (lingkungan hidup atau lingkungan lainnya)².

Secara ekologis tanah tersusun oleh tiga kelompok material, yaitu material hidup (faktor biotik) berupa biota (jasad-jasad hayati), faktor abiotik berupa bahan organik, dan faktor abiotik berupa pasir, debu, dan liat. Umumnya sekitar 5 % penyusun tanah merupakan biomas (biotik dan abiotik)³.

Cirri-ciri lingkungan tanah bervariasi menurut letak dan iklimnya. Tanah juga memiliki kedalaman, sifat-sifat fisik, komposisi kimiawi dan asal yang berbeda. Ada lima kategori utama unsur tanah, yaitu : partikel mineral, bahan organik, air, gas, dan jasad hidup⁴. Yang mana partikel mineral berupa fraksi

¹ Koes Irianto, *Mikrobiologi, Mengungkap Dunia Mikroorganisme* (cet 1, Bandung: CV. Yrama Media, 2006), h. 140.

² Mul Mulyani Sutedjo dan A.G. Kartasapoetra, *Pengantar Ilmu Tanah* (Jakarta: PT. Rineka Cipta, 2005), h. 23.

³ Kemas Ali Hanifah, A. Napoleon dan Nuni Ghofar, *Biologi Tanah Ekologi dan Mikrobiologi Tanah* (Jakarta: Rajagrafindo Persada, 2005), h. 1.

⁴ Koes Irianto, *Locit*.

anorganik, hasil perombakan bahan-bahan batuan dan anorganik yang terdapat di permukaan bumi, sedangkan bahan organik berasal dari sisa-sisa tanaman dan binatang dan berbagai kotoran binatang ⁵.

Secara umum tanah tersusun oleh senyawa anorganik, senyawa organik, udara dan air serta mengandung bagian yang berbentuk jasad hidup yang secara umum terdiri dari mikroorganisme. Mikroba tanah sebagian besar terdiri dari bakteri, fungi dan microalgae. Jumlah mikroba tanah sangat tinggi, yakni berkisar 320.000 – 200.000.000 setiap gram tanah ⁶.

Tanah berfungsi sebagai tempat tumbuh-berkembangnya perakaran penopang tegak-tumbuhnya tanaman dan penyuplai kebutuhan air dan udara, secara kimiawi berfungsi sebagai gudang dan penyuplai hara atau nutrisi (senyawa organik dan anorganik sederhana dan unsur-unsur esensial seperti N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Zn, Fe, Mn, B, Cl, dan lain-lain) dan secara biologis berfungsi sebagai habitat biota (organisme) yang berpartisipasi-aktif dalam penyediaan hara tersebut dan zat-zat aditif (pemacu tumbuh, proteksi) bagi tanaman-tanaman, yang ketiganya secara integral mampu menunjang produktivitas tanah untuk menghasilkan biomas dan produksi baik tanaman pangan, obat-obatan, industri perkebunan, maupun kehutanan ⁷.

⁵ Mul Mulyani Sutedjo dan A.G. Kartasapoetra, *Opcit.*

⁶ Lud Waluyo, *Teknik Metode Dasar Dalam Mikrobiologi* (Malang: Universitas Muhammadiyah Malang, 2008), h. 325.

⁷ Kemas Ali Hanifah, *Dasar-Dasar Ilmu Tanah* (Jakarta: Rajagrafindo Persada, 2005), h. 4.

B. Mikroba Tanah

Kandungan dan jenis mikroba yang ada di temukan dalam tanah tergantung pada jenis tanahnya. Factor abiotik yang menentukan jenis dan keragaman mikroba adalah komposisi tanah, pH, kelembaban dan kedalam tanah. Pada tanah yang ber-pH asam populasi fungi dominan, sedangkan pada tanah yang digenangi air mikroba anaerob lebih dominan ⁸.

Ada beberapa lingkungan di bumi ini yang mengandung sedemikian banyak ragam mikroorganisme seperti yang terkandung dalam tanah subur. Bakteri, cendawan, alga, protozoa dan virus secara bersama membentuk kumpulan mikroorganisme yang dapat mencapai jumlah total sampai bermiliar-miliar organisme per gram tanah ⁹.

Beberapa bakteri tanah dapat membentuk endospora terutama genus *Clostridium* dan *Bacillus*. Struktur ini sangat tahan terhadap factor lingkungan yang tidak menguntungkan. Spora yang dibentuk tidak mudah ditembus zat warna, sehingga harus diwarnai secara khusus. Pewarnaan harus disertai pemanasan agar zat warna masuk ke dalam sel. Bakteri pembentukan spora mudah diisolasi dari berbagai sumber¹⁰.

Kandungan dan jenis mikroba yang ditemukan dalam tanah tergantung pada jenis tanah. Faktor yang mempengaruhi jenis dan keragaman mikroba adalah

⁸ Bibiana w. Lay, Analisis Mikroba Di Laboratorium (Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 1994), h. 129.

⁹ Koes Irianto, *Mikrobiologi, Menguk Dunia Mikroorganisme* (Bandung: CV.Yrama Widya, 2006), h. 140

¹⁰ *Ibid.*

komposisi tanah, pH, kelembaban, dan kedalaman tanah. Mislanya, tanah yang digenangi air mikroba anaerob lebih dominan dibandingkan yang lainnya ¹¹.

Komponen-komponen anorganik maupun organik merupakan substrat atau medium yang baik bagi kehidupan mikroorganisme. Mikroorganisme-mikroorganisme penghuni tanah merupakan campuran populasi dari (a) protozoa seperti amoeba, flagellate, ciliate, (b) bakteri (*Clostridium*, *Rhizobium*) dan sebagainya, (c) alga (ganggang) seperti alga biru, alga hijau, diatom dan (d) jamur, terutama jamur bertingkat rendah seperti jamur lender, berbagai ragi dan berbagai Phycomycetes dan Ascomysetes. Pada umumnya mikroorganisme-mikroorganisme tersebut lebih banyak terdapat atau di dekat permukaan tanah. Makin masuk ke dalam tanah, makin berkurangnya penghuninya ¹².

Di lingkungan tanah yang mempunyai aerasi cukup, bakteri dan fungi akan dominan dibandingkan dengan lingkungan yang mengandung sedikit atau tanpa oksigen. Bakteri berperan terhadap semua perubahan biologis dan kimia lingkungan tanah. Bakteri menonjol karena kemampuannya tumbuh dengan cepat dan mendekomposisi sebagai substrat alam. Ada berbagai macam pengelompokan bakteri tanah, salah satu penggolongan dilakukan oleh Winogradsky, membagi bakteri menjadi 2 kelompok yaitu :

¹¹ *Opcit*, h. 327.

¹² D. Dwidjoseputro, *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Malang: Djambatan, 1998), h.180.

a. Autochthonus atau indigenous

Populasi bakteri ini tidak berfluktuasi, nutrient didapat dari zat-zat organik tanah dan tidak memerlukan sumber nutrient eksternal.

b. Zymogenous atau organism yang melakukan fermentasi

Populasi golongan ini paling aktif melakukan transformasi kimia, populasinya biasanya jarang, tetapi akan tumbuh subur apabila ditambah nutrient organik. Organisme melakukan fermentasi dengan cepat dan persediaan makanan cepat habis¹³.

Peranan terpenting mikroorganisme tanah ialah fungsinya yang membawa perubahan kimiawi pada substansi-substansi di dalam tanah, terutama pengubahan persenyawaan organik yang mengandung karbon, nitrogen, sulfur, dan fosfor menjadi persenyawaan anorganik. Proses ini disebut mineralisasi, di dalamnya terlibat sejumlah besar perubahan kimiawi serta berperan berbagai macam spesies mikroba¹⁴.

Mikroba, khususnya bakteri dan fungi berperan pula dalam siklus mineral atau daur mineral seperti S, C, dan P. kehadiran mikroba tersebut di dalam tanah, khususnya tanah pertanian dan pertambangan mempunyai nilai ekonomi baik dalam menyuburkan tanah, penyediaan mineral yang dibutuhkan oleh tanaman maupun dalam pengolahan endapan mineral dan proses pencucian pemurnian

¹³ Usman suwandi, "Mikroorganisme Penghasil Antibiotik", <http://www.kalbe.farma.com> (10 Desember 2010).

¹⁴ Koes irianto, *Mikrobiologi, Menguk Dunia Mikroorganiseme* (Bandung: CV.Yrama Widya, 2007), h. 141-142.

mineral. Golongan-golongan utama yang menyusun populasi mikroba tanah terdiri atas Prokariotik (bakteri dan actinomycetes), Fungi, Algae, microfauna (semut, cacing tanah, dan lainnya), dan Microbiota (Mycoplasma, Virus, Viroid dan Prion)¹⁵.

Actinomycetes

Aktinomycetes merupakan mikroorganisme uniseluler, menghasilkan miselium bercabang dan biasanya mengalami fragmentasi atau pembelahan untuk membentuk spora. Mikroorganisme ini tersebar luas tidak hanya di tanah tetapi juga di kompos, lumpur, dasar danau dan sungai. Pada mulanya organisme ini diabaikan karena pertumbuhannya pada plate agar sangat lambat. Sekarang banyak diteliti dalam hubungannya dengan antibiotik. Jenis organisme ini merupakan penghasil antibiotik yang paling besar di antara kelompok penghasil antibiotik, terutama dari jenis streptomyces (Bleomisin, Eritromisin, Josamisin, Kanamisin, Neomisin, Tetrasiklin dan masih banyak lagi). Di samping itu, antibiotik juga dihasilkan dari aktinomicetes jenis Mikromonospora (Gentamisin, Fortimisin, Sisomisin); Nocardia (Rifamisin, Mikomisin) dan lain-lain. Di alam, aktinomicetes dapat ditemui sebagai konidia atau bentuk vegetatif. Populasi di alam dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan organik, pH, kelembaban, temperatur, musim, kedalaman dan sebagainya. Di daerah iklim panas populasinya lebih besar dari pada daerah dingin. Mikroorganisme ini tidak

¹⁵Lud Waluyo, *Teknik Metode Dasar Dalam Mikrobiologi* (Malang: Universitas Muhammadiyah Malang, 2008), h. 235.

toleran terhadap pH rendah. Kebanyakan streptomices gagal berproliferasi dan aktivitasnya sangat rendah pada pH 5,0. Pada lingkungan pH tinggi, aktinomicetes mendominasi pertumbuhan mikroorganisme. Di daerah yang diolah dan masih belum dibuka, 70-90% populasi aktinomicetes adalah mstreptomices dan 3/4 isolat streptomices merupakan penghasil antibiotik. Sebagai organisme heterotrop, aktinomisetes memerlukan substrat organik. Beberapa strain mampu mendegradasi pati, inulin dan chitin. Hidrolisis chitin merupakan karakter aktinomietales. Bahkan *Nocardia Sp* mampu memetabolisir molekul organik yang tak lazim seperti parafin, fenol, steroid & pirimidin. Strain Mikromonospora mampu mendekomposisi chitin, selulosa, glukosida, pentosan dan mungkin lignin¹⁶.

Actinomycetes terdiri dari 10-50% total populasi mikroba dalam tanah. Organisme ini ditemukan dalam tanah (hampir semua), kompos dan sedimen. Kelimpahan populasi actinomycetes di dalam tanah adalah terbesar kedua setelah bakteri, yakni rentang 500.000 – 100.000.000 propagula per gram tanah. Propagula adalah bagian dari suatu mikroorganisme yang dapat tumbuh dan berkembangbiak. Actinomycetes bersifat aerobik, karena itu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan. Oleh karena itu, tidak dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang basah¹⁷.

¹⁶ *Op cit*, Usman Suwandi.

¹⁷ Lud Waluyo, *Mikrobiologi Lingkungan* (Malang: Universitas Muhammadiyah Malang, 2009), h. 267.

Actinomycetes bersifat saprofit, populasinya meningkat bila banyak bahan organik. Actinomycetes merupakan competitor yang lemah dalam mendegradasi substrat, tetapi dapat menggunakan selulosa dan kitin. Hampir semua Actinomycetes mendegradasi kitin ini dapat dijadikan prosedur untuk mengisolasi Actinomycetes¹⁸.

Ordo Actinomycetes dan Myxobacterales sebaliknya, mempunyai ciri-ciri yang terang sekali kedapatan kembali pada golongan jamur, misalnya mengenai bentuk benang yang dapat disebut miselium, kemudian ciri fisiologi mengenai kehidupannya sebagai makhluk heterotrof¹⁹.

Actinomycetes yang lain memiliki substrata tau filament aerial (atau keduanya) dan salah satunya dapat menghasilkan spora atau fragmen menjadi bentuk kokobasiler. Sebagian besar merupakan saprofit yang hidup di tanah, tetapi anggota bakteri grup ini bertanggung jawab terhadap tiga infeksi pada manusia aktinomikosis, nokardiosis dan aktinomisetoma²⁰.

Jamur/Fungi

Jamur mempunyai ciri yang khas, yaitu berupa benang tunggal bercabang-cabang yang disebut miselium, atau berupa kumpulan benang-benang yang padat menjadi satu. Hanya golongan Ragi (*Saccharomycetes*) itu tubuhnya berupa sel-sel tunggal. Ciri kedua ialah, jamur tidak mempunyai klorofil,

¹⁸ *Ibid.*

¹⁹ *Ibid.*

²⁰ Jawetz, Melnik & Adelberg's *Mikrobiologi Kedokteran* (Buku 1, Jakarta : Salemba Medika, 2001), h. 311.

sehingga hidupnya terpaksa heterotrof. Sifat ini menguatkan pendapat bahwa jamur merupakan kelanjutan bakteri di dalam evolusi ²¹.

Golongan jamur mencakup lebih daripada 55.000 spesies: jumlah ini jauh melebihi jumlah spesies bakteri. Bakteri dan jamur merupakan golongan tumbuhan yang tubuhnya tidak mempunyai diferensiasi, oleh karena itu disebut tumbuhan talus (thallophyta), lengkapnya thallophyta yang tidak berklorofil. Ganggang adalah thallophyta berklorofil ²².

Kebanyakan spesies fungi dapat tumbuh dalam rentang pH yang lebih lebar, dari sangat asam sampai sangat alkali. Populasi fungi biasanya mendominasi daerah asam, karena mikroba lain seperti bakteri dan aktinomicetes tidak lazim dalam habitat asam. Dalam biakan, bahkan fungi dapat tumbuh pada pH 2-3 dan beberapa strain masih aktif pada pH 9 atau lebih. Sebagai salah satu organisme penghasil antibiotik yang terkenal yaitu *Penicilium* (penisilin, griseofulvin), *Cephalosporium* (sefalosporin) serta beberapa fungi lain seperti *Aspergillus* (fumigasin); *Chaetomium* (chetomin); *Fusarium* (javanisin), *Trichoderma* (gliotoxin) dan lain-lain. Isolasi fungi sering menggunakan plate count. Pada prinsipnya, suspensi contoh tanah dalam air steril, diinokulasikan pada medium agar spesifik. Untuk menekan pertumbuhan bakteri dan aktinomicetes yaitu dapat dengan mengasamkan media sampai pH 4,0. Ini bukan berarti fungi mempunyai pertumbuhan optimum pada kondisi asam, tetapi untuk

²¹D. Dwidjoseputro, *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Malang: Djambatan, 1998), h. 147.

²² *Ibid.*

mengurangi kompetitor. Selain itu juga dapat menggunakan bakteriostatik seperti penisilin, novobiosin dan sebagainya. Sedangkan pada isolasi yeast, untuk menekan pertumbuhan bakteri dan jamur dapat digunakan sodium propionat. Populasi fungi dipengaruhi banyak faktor antara lain oleh zat organik, anorganik, pH, kelembaban, aerasi, temperatur, musim dan komposisi vegetasi. Komposisi vegetasi sangat mempengaruhi populasi misalnya di daerah yang ditanami gandum (oat) fungi yang menonjol adalah aspergillus, sedangkan penisilium paling banyak di daerah yang ditanami jagung (corn)²³.

Semua jamur adalah organism eukaryotik, dan setiap sel jamur mempunyai sedikitnya 1 nukleus dan membrane nucleus, reticulum endoplasma, mitochondria, dan apparatus sekretorik. Kebanyakan jamur bersifat obligat atau fakultatif aerob. Mereka bersifat khemotropik, mensekresi enzim yang mendegradasi banyak varietas substrat organik menjadi nutrient yang dapat larut, yang kemudian diabsorpsi secara pasif atau diambil ke dalam sel melalui transport aktif. Kebanyakan jamur pathogen bersifat eksogen, habitat aslinya adalah air, tanah, dan debris organik. Mikosis dengan insiden tertinggi, yaitu candidiasis dan dermatofitosis, disebabkan oleh jamur yang merupakan bagian dari mikroba flora normal atau yang beradaptasi dengan baik untuk hidup pada inang manusia. Untuk memudahkan, mikosis bisa digolongkan menjadi mikosis permukaan, kulit, subkutan, sistematik dan oportunistik. Penggolongan mikosis dalam

²³ *Ibid.*

kategori ini berdasarkan tempat masuk (*port d'entry*) yang lazim dan tempat permulaan infeksi²⁴.

Semua jamur mempunyai dinding sel, sel kaku yang penting untuk menemukan bentuknya. Dinding-dinding sel sebagian besar terbentuk oleh lapisan karbohidrat, rantai-rantai panjang polisakarida, juga glikoprotein dan lipid. Selama infeksi, dinding sel jamur mempunyai sifat-sifat patobiologi yang penting. Komponen permukaan dinding sel memperantarai penempelan jamur pada sel inang²⁵.

Kebanyakan jamur terdapat di alam dan tumbuh dengan cepat pada sumber nitrogen dan karbohidrat yang sederhana. Secara tradisional, agar *Sabouraud*, yang mengandung glukosa dan pepton modifikasi (pH 7,0), telah dipakai karena ia tidak cepat mendorong pertumbuhan bakteri²⁶.

C. Antibiotik

Antibiotik adalah suatu substansi (zat-zat) kimia yang diperoleh dari atau dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme, dan zat-zat itu dalam jumlah yang sedikit pun mempunyai daya penghambat kegiatan mikroorganisme yang lain. Antibiotik terbesar di alam, dan memegang peranan penting dalam mengatur populasi mikroba dalam tanah, air, limbah, dan kompos. Antibiotik yang kini banyak digunakan, kebanyakan dari genus *Bacillus*, *Penicillium*, dan

²⁴ Jawetz, Melnik & Adelberg's *Mikrobiologi Kedokteran* (Jakarta : Salemba Medika, 2005), h.313-318.

²⁵ *Ibid.*

²⁶ *Ibid.*

Streptomyces. Antibiotik pada prinsipnya adalah zat atau senyawa obat alami maupun sintetik yang digunakan untuk membunuh kuman penyakit dalam tubuh manusia dengan berbagai mekanisme sehingga manusia terbebas dari infeksi²⁷. Bakteri penghasil antibiotik terutama dari spesies *Bacillus* (basitrasin, polimiksin, sirkulin), selain itu juga dari spesies *Pseudomonas* (*Pyocyanine*), *chromobacterium* (Iodin) dan sebagainya. Isolasi bakteri diarahkan pada jenis yang lebih potensiil misalnya *Bacillus*²⁸.

Pada tahun 1940, sebelum antibiotika berkembang, hanya didapatkan dari 5 negara Actinomycetes, tetapi sekarang sudah lebih dari 50. Peningkatan pengetahuan tentang antibiotika ini karena actinomycetes merupakan sumber terbesar antibiotika alami. Antibiotika adalah molekul organik yang mempunyai daya antimicrobial. Antibiotika biasanya diambil dari metabolit intermediate yang pembentukannya melalui biosintesis yang bertahap²⁹.

Pada umumnya suatu contoh baku internasional dari suatu antibiotik mengandung sejumlah antibiotik yang telah dimurnikan secara teliti, baik terhadap kekuatannya maupun keaktifannya. Misalnya Internasional Standard Sample dari tetrasiklin yang ditetapkan pada tahun 1960 adalah suatu preparat

²⁷ Lud Waluyo, *opcit*, h. 237,267.

²⁸ Usman suwandi, "Mikroorganisme Penghasil Antibiotik", <http://www.kalbe.farma.com> (10 Desember 2010).

²⁹ Lud Waluyo., *opcit*.,h.269-270.

yang mengandung sejumlah 500 mg tetrasiklin klorida yang telah sangat dimurnikan³⁰.

Antibiotik memiliki beberapa sifat sebagai berikut : a). menghambat atau membunuh pathogen tanpa merusak inang (host), b). bersifat bakterisida dan bukan bakteriostatik, c). tidak menyebabkan resistensi pada kuman, d). berspektrum luas, d). tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu lama, e). tetap aktif dalam plasma, cairan badan atau eksudat, f). larut dalam air serta stabil, g) bakterisidal level, di dalam tubuh cepat dicapai dan bertahan untuk waktu lama³¹.

Antibiotik dapat digolongkan berdasarkan atas, spectrum aktivitas dan struktur kiminya. Penggolongan antibiotika berdasarkan atas spectrum aktivitasnya dapat dibagi atas beberapa golongan yaitu :

1. Antibiotik dengan spectrum luas, efektif baik terhadap gram positif maupun gram negative. Sebagai contoh adalah turunan tetrasiklin, turunan amfenikol, turunan aminoglikosida, turunan makrolida, rifampisin, beberapa turunan penisilin (ampisilin, amoksisilin, bakampisin, karbenisilin, hetasilin dan lain-lain dan sebagian besar turunan sefalosporin.
2. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram positif. Sebagai contoh adalah basitrasin, eritromisin, sebagian besar turunan penisilin

³⁰ Koes Irianto, *Menguak Dunia Mikrobiologi jilid 1*(Bandung; Yrama Widya, 2007), h.91.

³¹ Lud Waluyo, *Opcit*, h. 139.

seperti benzyl penisilin, kloksasilin, penisilin G prokain dan beberapa turunan sefalosporin.

3. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram negative. Sebagai contoh adalah kolistin, polimiksin B sulfat dan sulfomisin.
4. Antibiotika yang aktivitasnya dominan pada Mycobacteriae. Sebagai contoh adalah streptomisin, kanamisin, sikloserin, vimisin dan lain-lain.
5. Antibiotika yang aktif terhadap jamur. Sebagai contoh adalah grisofulvin, antibiotika polien (nistatin, amfoterisin B).
6. Antibiotika yang aktif terhadap neoplasma (anti kanker). Contohnya adalah aktinomisin, bleomisin, mitomisin, mitramisin dan lain-lain³².

Pengaruh antibiotik akhir adalah tertundanya pertumbuhan kembali bakteri setelah terpapar antimikrobia. Ini adalah sifat kebanyakan antimikrobia, kecuali sebagian besar β -lactam yang tidak menunjukkan pengaruh *postantibiotik* pada basil gram negatif. Karbapenem mempunyai pengaruh *postantibiotik* pada basil gram negatif. Pemilihan antibiotik secara rasional tergantung pada diagnosis dan uji kepekaan³³.

³²M. Natsir Djide dan Sartini, *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, 2008), h. 337-338.

³³Jawetz, Melnick & Adelberg's, *Mikrobiologi Kedokteran* (Buku 1, Jakarta : Salemba Medika, 2001), h. 237-238.

D. Uji Aktivitas Antibiotika

Uji potensi antibiotika dan vitamin secara mikrobiologik adalah cara suatu teknik untuk menetapkan potensi suatu antibiotik atau vitamin dengan mengukur efek senyawa tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Terdapat dua cara yang umum digunakan dalam uji potensi secara mikrobiologik yaitu :

1. Metode lempeng atau difusi agar.

Pada pengujian potensi suatu antibiotika dengan difusi agar, metode ini menggunakan media padat, yang pada permukaannya telah diinokulasikan mikroorganisme uji yang sensitive terhadap antibiotik yang secara merata. Pencadangan atau reservoir diletakkan pada permukaan media tersebut dan selanjutnya dipipet senyawa antibiotik yang akan diuji ke dalam pendang dengan volume tertentu. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu dan waktu tertentu. Selama masa inkubasi akan terjadi proses difusi antibiotik kedalam gel agar dan membentuk daerah hambatan (zone). Zone yang terbentuk inilah yang digunakan sebagai dasar kuantitatif untuk membentuk potensi antibiotik baku.

2. Metode pengujian secara tabung atau turbidimetri.

Media yang digunakan adalah media cair yang diinokulasikan dengan mikroorganisme uji yang sensitif dalam tabung-tabung reaksi steril. Selanjutnya dipipet senyawa antibiotik yang diuji dan kemudian diinkubasikan. Pertumbuhan mikroorganisme ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam

tabung sesuai dengan tingkat pengenceran dari senyawa yang diuji dan antibiotika baku. Kekeruhan media setelah masa inkubasi tadi dinyatakan sebagai kerapatan optik media tersebut, tergantung pada kadar larutan senyawa yang diuji di dalam tabung, berbanding terbalik apabila senyawa tersebut adalah antibiotika, sedangkan pada vitamin akan berbanding lurus³⁴.

Adapun faktor-faktor teknis yang mempengaruhi ukuran zona dalam metode difusi agar, sebagai berikut :

- a. Kerapatan inokulum atau kepekatan inokulum (inoculums density)
 1. Bila inokulum terlalu tipis, maka zone inhibisinya akan menjadi lebih luas, meskipun sensitivitas dari mikroorganisme uji tidak berubah, sehingga strain-strain yang relative resisten mungkin akan dilaporkan.
 2. Sebaliknya bila inokulum terlalu pekat, maka ukuran zone berkurang dan strain-strain yang diuji yang sensitif mungkin dilaporkan resisten.
- b. Waktu dari penggunaan paper disc (preinkubasi). Bila plat waktu perinkubasinya lama pada suhu kamar, kemungkinan telah terjadi perkembangan inokulum sebelum paper disc dipergunakan. Hal ini menyebabkan terjadinya reduksi dari diameter zone hambatan dan akan menghasilkan strain sensitive dilaporkan sebagai strain resisten.
- c. Suhu inkubasi. Secara normal, uji sensitivitas diinkubasikan pada suhu 35-37°C untuk pertumbuhan optimal. Bila suhu direndahkan, maka yang

³⁴ M. Natsir Djide, Sartini dan H. Syahrudin Kadir, *Analisis Mikrobiologi Farmasi* (Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, 2006), h. 258-259.

dibutuhkan untuk pertumbuhan efektif diperpanjang dan akan terbentuk zona yang lebih luas. Sebagai contoh pada pengujian sensitivitas terhadap *Staphylococcus aureus* yang resisten heterogenous terhadap methi-cilin (oxacillin), maka gugus resisten dari populasi dapat ditentukan pada suhu 35°C. Pada suhu yang lebih tinggi, maka kultur pada bagian dalam kelihatan sensitif. Tetapi bila suhu lebih rendah, maka koloni-koloni resisten berkembang dalam zone hambatan atau daerah inhibisi. Koloni yang resisten ini dapat dilihat dengan mudah bila plate ditinggalkan untuk beberapa jam pada suhu kamar, sebelum pembacaan hasil. Koloni-koloni seperti itu selalu diidentifikasi untuk mengetahui apakah terjadi kontaminasi.

- d. Waktu inkubasi, Kebanyakan metode sensitivitas menggunakan waktu atau lama inkubasi antara 16-18 jam. Bila dalam keadaan darurat, beberapa laporan menyatakan dapat menggunakan waktu inkubasi 6 jam, namun hal ini tidak dianjurkan untuk pekerjaan rutinitas, dan hasilnya harus selalu ditetapkan setelah waktu inkubasi biasa.
- e. Ukuran cawan petri, kedalaman medium dan jarak paper disc. Uji sensitivitas pada umumnya dilakukan pada cawan petri dengan diameter 9-10 cm dan paper disc antibiotik dipakai tidak lebih dari 6-7 buah paper disc pada setiap cawan petri. Bila jumlah paper disc antibiotik lebih besar maka digunakan cawan petri dengan diameter 14 cm.

- f. Komposisi media. Komposisi medium dapat mempengaruhi ukuran daya hambatan (karena adanya efek terhadap kecepatan pertumbuhan mikroorganisme), kecepatan difusi antibiotik dan aktivitas dari zat-zat pembentukan medium³⁵.

E. Pengecatan Gram

Bakteri merupakan organism yang sangat kecil (berukuran mikroskopis). Bakteria rata-rata berukuran lebar 0,5-1 mikron dan panjang hingga 10 mikron (1 mikron = 10^{-3} mm). Itu berarti pula bahwa jasad renik ini tipis sekali sehingga tembus cahaya. Akibatnya pada mikroskop tidak tampak jelas dan sukar untuk melihat bagian-bagiannya. Untuk melihat bakteri dengan jelas, tubuhnya perlu diisi dengan zat warna, pewarna ini disebut pengecatan bakteri³⁶.

Pengecatan bakteri sudah dilakukan sejak permulaan berkembangnya mikrobiologi di pertengahan abad ke-19 oleh **Louis Pateur** dan **Robert Koch**. Pada umumnya, ada dua macam zat warna yang sering dipakai, yaitu : 1. Zat warna yang bersifat asam, komponen warnanya adalah anion, biasanya dalam bentuk garam natrium. 2. Zat warna yang bersifat alkalis, dengan komponen warna kation, biasanya dalam bentuk klorida³⁷.

Pada prosedur pewarnaan sederhana hanya dapat melihat mikroba dengan jelas, tetapi tidak dapat membedakan jenis-jenis bakteri yang berbeda dngan

³⁵ M. Natsir Djide dan Sartini, *Mikrobiologi Klinik* (Makassra: Mikrobiologi-Bioteknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar, 2010), h. 261-263.

³⁶ Koes Irianto, *Menguak Dunia Mikroorganisme jilid 1* (Bandung: Yrama Widya, 2007), h. 59.

³⁷ *Ibid.*

morfologi sama. **Christian Gram**, seorang ahli bakteriologi Denmark secara kebetulan menemukan suatu pewarnaan bertingkat, yang dinamakan **Pengecatan Gram**. Pewarnaan gram memilahkan bakteri menjadi 2 kelompok, yakni Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif³⁸.

Bakteri Gram positif berwarna ungu yang disebabkan kompleks warna Kristal violet-iodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Sedangkan bakteri gram Negatif berwarna merah karena kompleks warna tersebut larut sewaktu pemberian larutan pemucat dan kemudian mengambil zat warna kedua yang berwarna merah. Perbedaan hasil dalam pewarnaan tersebut disebabkan perbedaan struktur, terutama dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut³⁹.

Pewarnaan sel mikroorganisme umumnya menggunakan lebih dari satu macam zat warna. Hasil pewarnaan tergantung beberapa factor antara lain :

1. Fiksasi

Cara fiksasi yang paling banyak digunakan dalam pewarnaan bakteri adalah dengan membuat lapisan suspensi bakteri di atas gelas benda. Kemudian suspensi tersebut dikering-anginkan dan dilakukan beberapa kali di atas nyala lampu spiritus. Pewarnaan biologi lainnya dapat digunakan agensi-agensia fiksasi kimia seperti campuran asam cuka dengan asam pikrat, alkohol dengan aseton, asam kromat dengan asam osmiat, dan lain-lain.

³⁸ Lud Waluyo, *Teknik Metode Dasar Dalam Mikrobiologi* (Malang: Universitas Muhammadiyah Malang, 2008), h.129-130.

³⁹ *Ibid.*

2. Peluntur zat warna

Pelunturan zat warna adalah suatu senyawa yang menghilangkan warna dari sel yang telah diwarnai. Peluntur zat warna berfungsi untuk menghasilkan kontras yang baik pada bayangan mikroskop. Pada umumnya sel-sel yang mudah diwarnai akan lebih mudah pula dilunturkan warnanya. Sedangkan sel-sel yang sukar diwarnai akan lebih sulit dilunturkan warnanya. Adanya variasi di dalam kecepatan dekolorisasi (pelunturan) zat warna inilah yang digunakan untuk membedakan bermacam-macam jenis bakteri dalam pewarnaan Gram atau pewarnaan bertingkat.

3. Intensifikasi pewarnaan

Zat warna dapat diintensifikasikan dengan beberapa cara misalnya dengan mempertinggi kadar zat warna, mempertinggi temperature pewarnaan ($60 - 90^{\circ}\text{C}$) dan menambahkan suatu mordant. Mordant adalah suatu zat kimia yang dapat menyebabkan zat warna terikat lebih kuat pada jaringan sel.

4. Substrat

Setiap zat warna, zat warna asam atau basa dapat bereaksi dengan konstituen-konstituen sel tertentu. Oleh karena itu, substrat organik seperti lipida, protein, asam-asam nukleat, dan karbohidrat juga mempengaruhi pewarnaan.

5. Zat warna penutup/zat warna lawan

Zat warna penutup adalah suatu zat warna basa yang berbeda warnanya dengan zat warna mula-mula yang digunakan. Fungsinya untuk

memberikan warna pada sel yang berbeda warnanya dengan zat warna mula-mula. Zat warna penutup diberikan pada akhir pewarnaan dengan tujuan member kontras pada sel-sel yang tidak menyerap zat warna utama⁴⁰.

F. Uji Biokimia

Uji biokimia didasarkan pada beberapa hasil metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim. Jarang sekali dapat ditentukan suatu genus berdasarkan sifat morfologi atau biakan saja. Ini berarti bahwa penentuan suatu spesies memerlukan kumpulan berbagai sifat biokimia dari suatu mikroorganisme. Sifat biokimia yang dipelajari di laboratorium hanyalah ciri yang penting untuk identifikasi. Karena uji biokimia memerlukan berbagai media, maka dari koloni yang terpisah perlu dibuat dahulu biakan harian (*working culture*) dari koloni terpisah tersebut⁴¹.

1. Uji Fermentasi Karbohidrat

Hasil akhir fermentasi karbohidrat ditentukan oleh sifat mikroba, media biakan yang digunakan, serta factor lingkungan, antara lain suhu dan pH. Media fermentasi harus mengandung senyawa yang dapat dioksidasi dan difermentasikan oleh mikroorganisme. Glukosa termasuk senyawa yang paling sering digunakan oleh mikroorganisme dalam proses fermentasi itu. Untuk menentukan adanya fermentasi, di laboratorium digunakan media kaldu

⁴⁰ *Ibid*

⁴¹ Bibiana w. Lay, Analisis Mikroba Di Laboratorium (Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 1994), h. 79

karbohidrat digunakan media kaldu karbohidrat dan media MR-VP. Pembentukan asam dapat diketahui dengan menambahkan indikator ke dalam media.

2. Uji Katalase

Katalase adalah enzim yang mengkatalisasikan penguraian hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan O_2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivasikan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut. Katalase adalah salah satu enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida, enzim lainnya yang dapat menguraikan hidrogen peroksida adalah *peroksidase*.

Uji katalase berguna dalam identifikasi kelompok bakteri tertentu. Pada bakteri bentuk kokus, uji katalase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. Kelompok *Streptococcus* bersifat katalase-negatif, sedangkan *Staphylococcus* bersifat katalase-positif.

3. Uji IMVIC

Untuk membedakan *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli* dilakukan uji IMVIC yang terdiri dari uji-uji: Indol-Methyl red-Voges Proskauer-Citrat.

4. Uji Produksi H₂S

Produksi H₂S dapat terlihat dengan menggunakan media yang mengandung polipeptida dan kaya asam amino yang mengandung sulfur dan ion Fe⁺⁺.

5. Uji Methyl Red

Uji methyl red digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Beberapa bakteri memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga akan menurunkan pH media pertumbuhannya menjadi 5.0 atau lebih rendah. Methyl Red berwarna merah pada lingkungan dengan pH 4.4 dan berwarna kuning dalam lingkungan dengan pH 6.2.

6. Uji Oksidase

Uji ini berfungsi untuk menentukan adanya oksidase sitokrom yang ditemukan pada mikroorganisme tertentu. Uji ini berguna dalam identifikasi mikroorganisme patogen seperti *Neisseria gonorrhoea* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kedua bakteri ini memberikan hasil positif dalam uji oksidase.

7. Uji Hidrolisis Urea

Beberapa mikroorganisme mampu menghasilkan enzim urease yang menguraikan urea menjadi ammonium dan CO₂. Aktivitas enzim urease ini dapat diamati dengan menumbuhkan mikroorganisme dalam media biakan yang mengandung urea dan indikator pH. Bila urea dihidrolisis, NH₄ terakumulasi dalam media biakan dan menyebabkan pH media menjadi basa. Perubahan warna

dari merah-jingga menjadi merah ungu merupakan petunjuk terjadinya hidrolisis urea.

8. Uji Sitrat

Untuk uji ini dapat digunakan medium sitrat – koser berupa medium cair atau medium sitrat – simmon berupa medium padat. Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa mikroorganisme mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

9. Uji Voges-Proskauer (VP)

Uji ini digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang melaksanakan fermentasi 2,3 butanadiol. Uji merupakan uji tidak langsung untuk mengetahui adanya 2,3-butanadiol dan selalu didapatkan secara serentak, sehingga uji VP abash untuk menentukan adanya 2,3-butanadiol⁴².

G. Uraian Mikroba Uji

1. *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi

Phylum : Protophyta

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Familia : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

⁴² *Ibid.*

b. Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif, sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5 μm , terdapat tunggal dan berpasangan, dan secara khas membelah diri lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur. Dinding sel mengandung dua komponen utama; peptidoglikan dan asam teikoat. Metabolism secara respiratif dan fermentative. Tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerob. Suhu optimum 35-40°C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lender hewan berdarah panas. Kisaran inangnya luas, dan banyak galur merupakan patogen potensial⁴³.

2. *Escherichia coli*

a. Klasifikasi

Divisio : Procaryota

Class : Gammaproteobacteria

Orda : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*⁴⁴

⁴³ Garrity, G, M, Bell, J, A, and Lilburn, T. G. *Taxonomic Outline of the Prokaryotes Brgey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition. New York Berlin Heidelberg: Springer, United States of America, 2004.

⁴⁴ *Ibid.*

b. Sifat dan Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus, $1,1 - 1,5 \mu\text{m} \times 2,0 - 6,0 \mu\text{m}$, motil dengan flagelum peritrikus atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktosa difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas. *Escherichia coli* menghasilkan tes positif terhadap indol, lisin dekarboksilase, dan memfermentasikan manitol dan menghasilkan gas dari glukosa. Isolasi dari air seni dapat dengan cepat diidentifikasi karena hemolisis dalam agar darah, mempunyai morfologi yang khas pada media pembeda akan menunjukkan warna kemilau dan tes indol positif⁴⁵.

⁴⁵ Jawets, *Mikrobiologi Kedokteran* (Buku 2, Jakarta: Salemba Medika, 2005), h. 318.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif yang dilakukan untuk memberi gambaran mengenai mikroba penghasil antibiotik dari tanah asal Lapangan Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

B. Variabel penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel tunggal yaitu mikroba penghasil antibiotik dari tanah asal lapangan Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa.

C. Definisi Operasional Variabel

Mikroba tanah penghasil antibiotik adalah mikroba di tanah Lapangan Kampus 2 UIN Alauddin Samata kabupaten Gowa yang dapat menghasilkan antibiotik yang dilihat dari adanya zona hambat.

D. Ruanglingkup dan Batasan Penelitian

1. Pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 21 Februari 2011 di Lapangan Sepak Bola Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa,

di empat titik di setiap sudut lapangan pada ke dalaman 10-15 cm dari permukaan tanah.

2. Indentifikasi dilakukan berdasarkan sifat-sifat morfologi sel, fisiologi sel dalam pereaksi kimia dan ciri-ciri biakan menurut determinasi bakteriologi.
3. Isolasi mikroba dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Kota Makassar pada tanggal 21-28 Februari 2011, kemudian pengujian daya hambat dilakukan pada tanggal 1-14 maret 2011 di Laboratorium Biologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, cawan petri, deck glass, labu Erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, inkubator, lampu spiritus, *laminar air flow* (LAF), lemari pendingin, mikroskop, neraca O'Hauss, objek glass, ose bulat, ose lurus, oven, penangas air, tabung reaksi, tabung durham, timbangan analitik (AND), dan rak tabung.

2. Bahan

Air suling, amonium hidroksida, asam asetat, biakan murni *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, cat A,B,C dan D, etanol 70%, etanol 96%, medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA), medium *Nutrien Agar* (NA),

medium *Maltosa Yeast Ekstrak Broth* (MYB), medium *Klinger Iron Agar* (KIA), medium pengujian biokimia, *Mac Conky Agar* (MCA).

F. Cara Kerja

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan deterjen hingga bersih lalu dibilas dengan air suling, kemudian alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan lampu spiritus. Alat-alat plastik disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit¹.

2. Pembuatan Medium

Bahan-bahan yang disiapkan untuk pembuatan medium NA, medium PDA, medium MYB, medium KIA, MCA, dan medium pengujian biokimia ditimbang sesuai dengan komposisi medium yang akan dibuat, lalu dilarutkan dengan air suling steril, dan dipanaskan serta disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit².

¹ Koes Irianto, *Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1* (Cet. II : Bandung: CV. Yrama Widya, 2007), h. 87.

² D. Dwidjoseputro, *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Malang: Djambatan, 1998), h. 41.

3. Pengambilan dan Penyiapan Sampel

a) Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil secara acak pada empat titik di lapangan kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa dengan menggunakan botol yang telah disterilkan.

b) Pembuatan Suspensi Sampel

Sebanyak 1 gram sampel tanah, kemudian dimasukkan ke dalam botol pengencer dan dicukupkan dengan air suling steril hingga 10 ml (pengenceran 10^{-1}). Suspensi sampel dari pengenceran 10^{-1} kemudian dibuat pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} sampai pada pengenceran 10^{-5} .³

c) Pembiakan Mikroba Tanah

Suspensi sampel dari setiap pengenceran diambil 1 ml secara aseptis, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan medium NA untuk bakteri dan medium PDA untuk jamur lalu dihomogenkan. Kemudian diinkubasi 1 x 24 jam untuk bakteri dan 2-7 hari untuk jamur pada suhu 37°C .⁴

Mengambil 1 ose koloni bakteri dan jamur yang menunjukkan adanya zona hambatan pada medium NA dan PDA kemudian di murnikan dengan menggunakan medium selektif yaitu BA untuk bakteri gram positif, MCA untuk bakteri gram negatif pada cawan petri lalu diinkubasi

³ Lud Waluyo, *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi* (Malang: Universitas Muhammadiyah Malang, 2008), h. 180.

⁴*Ibid.*

selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan untuk jamur dengan menggunakan medium PDA pada suhu kamar sehingga diperoleh kultur koloni mikroba yang murni, yaitu isolat yang hanya mengandung satu bentuk morfologi koloni yang sama.

d) Seleksi dan Isolasi Biakan

Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh yang memperlihatkan adanya hambatan berupa daerah bening di sekelilingnya. Koloni ini selanjutnya diisolasi dan dipindahkan pada medium BA dan MCA. Isolasi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh biakan murni yang hanya terdiri dari satu macam koloni. Biakan murni tersebut lalu dipindahkan pada agar miring sebagai stok. Isolat mikroba yang diperoleh dimurnikan dengan cara diinokulasikan menggunakan metode kuadran.

e) Fermentasi Biakan Murni

Koloni biakan murni diambil 1 ose, diinokulasikan dalam medium NA dan PDA miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam, kemudian disuspensikan dengan 2 ml larutan NaCl fisiologis dan diinokulasikan dalam 10 ml medium pembenihan cair MY-Broth, Inokulum sebanyak 2 ml dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml medium cair MY-Broth, diinkubasi pada suhu kamar selama 1×24 jam dan dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 200 rpm.

4. *Penyiapan Mikroorganisme Uji*

Biakan uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* diambil 1 ose, lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA miring, dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1×24 jam.

5. *Pengujian Aktivitas Antibiotik*

Suspensi mikroba uji sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam 15 ml medium *Nutrient Agar* (NA) untuk bakteri dihomogenkan, kemudian dibiarkan hingga setengah memadat. Setelah itu diletakkan *disc blank* yang sudah direndam dengan filtrat hasil fermentasi secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam.

Untuk khamir uji digunakan medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3×24 jam. Daerah hambatan terlihat berupa zona bening di sekitar disk yang berisi hasil fermentat, setelah itu diukur diameter zona bening yang terbentuk dan dicatat sebagai isolat aktif.

6. *Identifikasi Morfologi Secara Makroskopik*

Isolat murni yang dihasilkan kemudian diinokulasikan 1 ml ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan medium PDA sebanyak 10 ml ke dalam cawan petri kemudian dihomogenkan. Cawan petri diinkubasi selama 3×24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk, warna dan permukaan koloni.

7. Identifikasi Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 96% kemudian difiksasi di atas lampu spiritus, selanjutnya isolat aktif diambil secara aseptik dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan. Difiksasi kembali di atas lampu spiritus. Setelah dingin ditetaskan cat Gram A (kristal violet) 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Setelah itu ditetesi dengan Gram B (Iodium) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Kemudian ditetesi dengan Gram C (Alkohol 96 %) selama 30 detik, dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Terakhir ditetesi dengan Gram D (Safranin) selama 45 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas serap. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat bentuk dan warna sel di bawah mikroskop dengan pembesaran tertentu.

8. Pengujian Aktivitas Biokimia

Aktivitas biokimia sangat penting dalam pengidentifikasian suatu bakteri. Jenis reaksi biokimia yang terjadi pada tiap organism berbeda-beda, dapat dikatakan bahwa reaksi biokimia merupakan sidik jari organism dalam pengidentifikasian. Tiap jenis berbeda molekul DNA yang khas dengan rangkaian nucleotide base⁵.

⁵ Lud Waluyo, *Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi* (Malang: UMM Pres, 2008), h. 151

Aktivitas biokimia atau metabolisme adalah berbagai reaksi kimia yang berlangsung dalam tubuh makhluk hidup untuk mempertahankan hidup. Identifikasi dan pengukuran perubahan kimia yang dilakukan mikroorganisme dengan makhluk berbagai pengujian hanya untuk mengetahui apakah mikroorganisme tersebut menyebabkan perubahan kimia pada suatu substansi khusus atau tidak dan juga pengujian yang dilakukan untuk mengidentifikasi sebagian besar senyawa kimia yang terlihat dalam proses metabolisme⁶.



⁶ Lud Waluyo, Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi (Malang: UMM Pres, 2008), h. 151

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

1. Isolasi mikroba dari tanah pada media agar

Dari hasil penelitian yang dilakukan pada sampel tanah ditemukan 3 isolat bakteri yang menunjukkan adanya daya hambat berupa zona bening di sekelilingnya pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Sedangkan untuk jamur ditemukan 4 isolat jamur pada pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . tampak pada lampiran 1.

2. Pemurnian isolat mikroba

Koloni mikroba yang memperlihatkan zona hambatan kemudian dimurnikan dengan menggunakan medium selektif Blood Agar (BA) untuk bakteri gram positif, Mac Conkey Agar (MCA) untuk bakteri gram negatif, di cawan petri lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri, dan untuk jamur di inkubasi selama 3-5 hari pada suhu kamar dengan menggunakan medium Potato Dextrosa Agar (PDA), sehingga diperoleh diperoleh kultur koloni mikroba yang murni, yaitu isolat yang hanya mengandung satu bentuk morfologi koloni yang sama. Isolat murni tersebut kemudian dibuat menjadi kultur dalam media agar

miring sebagai stok. Dari hasil isolasi yang dilakukan diperoleh 3 isolat murni dari bakteri dan 4 isolat jamur seperti terlihat pada lampiran 2.

3. Fermentasi Isolat Mikroba

Isolat yang telah dimurnikan kemudian di fermentasi menggunakan medium MYB dan diinkubasi selama 1 x 24 jam sambil dishaker inkubator dengan kecepatan 200 rpm dan terlihat adanya endapan di dasar tabung reaksi.

4. Uji aktivitas antibiotik dari isolat mikroba tanah

Uji aktivitas antibiotik dilakukan dengan cara difusi agar dengan menggunakan medium NA. suspensi mikroba uji di inokulasikan ke dalam cawan petri sebanyak 1 ml, diatur sedemikian *antimicrobial susceptibility test disc* yang telah direndam dalam vial yang berisi metabolit sekunder dari isolat, kemudian diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi medium dan suspensi mikroba. Diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 3 x 24 jam untuk jamur pada suhu 27°C. Terlihat adanya zona hambatan yang terbentuk pada isolat DA₁, DA₂ dan DA₃ dan untuk jamur terlihat pada isolat JA₁ pada medium.

5. Pengamatan morfologi secara mikroskopik dengan pengecatan gram

Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk morfologi dan warna dari mikroba tanah. Dimana bakteri gram positif menunjukkan warna ungu dan bakteri gram negative berwarna merah.

B. Pembahasan

Isolasi mikroba tanah yang berasal dari Lapangan Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa merupakan tahap awal dalam penelitian ini. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada empat titik, yang bertujuan untuk dapat mengisolasi bakteri yang berlainan sifatnya dengan harapan untuk menemukan isolat murni yang lebih baik, mengingat dalam komposisi zat kimia dalam tanah yang berbeda dapat tumbuh mikroba yang berbeda pula. Dengan melihat jenis mikroba yang tumbuh ternyata mikroba yang tumbuh dari ke empat titik tersebut hampir sama.

Sampel tanah yang telah diambil langsung dibawa ke Laboratorium untuk diperiksa. Hal ini bertujuan agar mikroba dari tanah tersebut tidak mati. Pada metode pengenceran, dilakukan pengenceran dari 10^{-1} - 10^{-5} untuk bakteri dan jamur. Hal ini bertujuan agar koloni mikroba yang tumbuh tidak terlalu banyak dan menumpuk.

Metode tuang dilakukan untuk mengisolasi mikroba dengan menggunakan medium NA dan PDA karena kedua medium tersebut mengandung nutrisi untuk pertumbuhan mikroba tanah. Mikroba tanah yang diperoleh ditunjukkan dengan adanya koloni bakteri yang menghambat bakteri yang hidup disekitarnya. Dimana pada medium NA terdapat 3 isolat bakteri pada pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} dan pada medium PDA terdapat 4 isolat jamur pada pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3}

yang menunjukkan adanya mikroba tanah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lainnya.

Isolat yang telah diperoleh kemudian dimurnikan dengan menggunakan metode tuang yang mana digunakan medium BA sebagai medium selektif untuk bakteri gram positif dan MCA untuk bakteri gram negative. Medium ini digunakan untuk mempermudah pengamatan dan identifikasi. Isolat murni yang telah di peroleh kemudian di pindahkan ke media agar miring KIA untuk pengamatan dan sebagai stok.

Hasil isolat yang telah dimurnikan kemudian di fermentasi dengan menggunakan medium *Maltosa Yeast Broth* (MYB) selama 1 x 24 jam sambil di shaking dengan kecepatan 200 rpm, agar selama fermentasi bakteri mencapai fase stasioner dan bakteri akan menghasilkan metabolit sekunder. Medium MYB digunakan karena media ini merupakan media cair yang mengandung ekstrak yeast sebagai sumber protein, maltosa dan dekstroza sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber asam amino, yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme mikroorganisme¹.

Medium MYB yang telah di inokulasikan dengan isolat mikroba dari tanah ditambahkan NaCL fisiologis sebanyak 2ml, yang mana NaCl fisiologis ini berfungsi untuk menjaga agar dinding sel pada bakteri ini tidak rusak selama masa shaking berlangsung.

¹ Lud Waluyo, *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi* (Malang: UMM Press, 2008), h.158.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan mikroba uji *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Adapun pemilihan mikroba uji tersebut karena sifat-sifatnya yang patogenik. *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi kulit dan keracunan makanan sedangkan *Escherichia coli* penyebab utama diare kronik².

Mikroba uji yang di gunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* mewakili bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* mewakili bakteri gram negative. Adapun isolat yang menunjukkan aktivitas terhadap mikroba uji yaitu isolat DA₁, DA₂ dan DA₃ untuk bakteri dan isolat JA₁ untuk jamur.

Pada hari pertama dalam masa inkubasi selama 1 x 24 jam menunjukkan bahwa pada isolat DA₁ terdapat daya hambat terbesar dengan pengulangan sebanyak lima kali pada *E. coli* sehingga rata-ratanya zona hambatnya 2,04 mm, dibandingkan dengan mikroba uji *S. aureus* rata-rata zona hambatnya 0,75 mm. Untuk isolat bakteri DA₂ menunjukkan bahwa zona hambat pada *E. coli* rata-ratanya 1,13 mm dan untuk *S. aureus* rata-rata zona hambatnya 0,71 mm. Sedangkan untuk isolat bakteri DA₃ memberikan daya terbesar pada bakteri uji *E. coli* dengan rata-rata zona hambat 2,62 mm, dibandingkan dengan *S. aureus* yang zona daya hambatnya hanya 0,79 mm.

Pada hari kedua masa inkubasi 2 x 24 jam untuk isolat bakteri DA₁ menunjukkan bahwa zona hambat yang terbesar ditunjukkan oleh bakteri uji *E.*

² Salle A.J, *Fundamental Principles of Bacteriology*, 5th edition (New York: Mc Graw Hill Company, 1961),h. 25.

coli dengan rata-rata zona hambat 1,27 mm sedangkan untuk *S. aureus* rata-ratanya 0,68 mm. untuk isolat DA₂ rata-rata untuk *S. aureus* 0,67 mm dan untuk *E. coli* 0,79 mm. sedangkan untuk isolat bakteri DA₃ menunjukkan bahwa zona hambat terbesar diberikan dari *E. coli* dengan rata-rata 1,87 mm sedangkan untuk *S. aureus* rata-ratanya 0,77 mm.

Pada hari ketiga masa inkubasi 3 x 24 jam untuk isolat bakteri DA₁ menunjukkan zona hambat dengan rata-rata 0,29 mm untuk *S. aureus* sedangkan untuk bakteri uji *E. coli* tidak lagi terlihat adanya daerah bening disekitar paper disk. Untuk isolat bakteri DA₂ menunjukkan bahwa bakteri uji *E. coli* masih memberikan zona hambat terbesar dibandingkan dengan bakteri uji *S. aureus*, yang mana untuk *E. coli* rata-ratanya 0,32 mm dan *S. aureus* 0,03 mm. hal ini juga ditunjukkan pada isolat bakteri DA₃ yang mana *E. coli* masih menunjukkan adanya zona hambat terbesar pada *E. coli* yaitu rata-rata 1,82 mm dan untuk *S. aureus* hanya 0,08 mm.

Selanjutnya, untuk isolat jamur ditemukan bahwa dari empat isolat jamur yang ditemukan, hanya satu isolat jamur yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* yaitu pada isolat jamur JA₁ dengan lama masa inkubasi 1 x 24 jam menunjukkan bahwa bakteri uji *E. coli* memberikan zona hambat terbesar dengan rata-rata 1,69 mm dan untuk *S. aureus* 1,4 mm. Selanjutnya pada masa inkubasi 2 x 24 jam, yang mana untuk *E. coli* rata-rata zona hambatnya 0,94 mm sedangkan *S. aureus* 0,93 mm. Pada hari kedua ini bakteri uji *E. coli* masih tetap memberikan rata-rata zona hambat terbesar. Begitu

juga untuk hari ke tiga dengan lama masa inkubasi 3 x 24 jam, zona hambat untuk *E. coli* rata-ratanya 0,82 mm dan untuk *S. aureus* rata-ratanya 0,74 mm.

Dari hasil uji zona hambat yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa bakteri uji *E. coli* memberikan zona hambat terbesar dibandingkan *S. aureus*. Yang mana *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai susunan kimiawi yang lebih kompleks dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan yang terhitung rendah atau lebih tipis jarang melebihi 10% dari bobot kering dindingnya. Letak lapisan peptidoglikan pada dinding sel *E. coli* terletak pada lapisan dalam dari struktur lapis ganda dinding sel dan berupa kantung yang sangat tipis. Selain itu pada dinding sel bakteri Gram negatif terdapat lapisan dinding luar yang mempunyai struktur menyerupai membran sitoplasma yang tidak ditemukan pada dinding sel bakteri Gram positif yang mempunyai susunan yang kompleks, peptidoglikannya lebih tebal, tidak hanya terdiri dari polisakarida, tetapi juga mengandung lipida, protein dan polisakarida³.

Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopik dengan pengecatan Gram isolat bakteri yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang diperoleh agar dapat diklasifikasikan sebagai bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif. Hasil penelitian yang dilakukan bahwa untuk isolat bakteri DA₁ adalah bakteri gram positif sedangkan untuk isolat bakteri DA₂ dan DA₃

³ Alimuddin Ali, *Mikrobiologi Dasar Jilid 1* (Makassar: Badan Penerbit Universitas Negeri Makassar, 2005), h. 29-31.

adalah gram negatif. Gram negatif memiliki dinding sel yang tipis sehingga pada pemberian cat penutup (Safranin) dapat terwarnai, sedangkan untuk bakteri Gram positif mempunyai kadar lipid dan protein yang rendah sehingga mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol sehingga protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil sehingga kompleks kristal violet dan Iodium dipertahankan karenanya sel bakteri berwarna biru atau ungu. Menurut Djide, diagnosa mikroskopik hanya merupakan dugaan. Untuk itu agar diperoleh diagnosa yang konklusif, sifat-sifat biokimia merupakan keharusan yang harus dilakukan⁴.

Hasil penghitungan zona hambat yang telah dilakukan menunjukkan hasil perbandingan zona hambat dari hari pertama sampai hari ketiga mengalami penurunan karena memiliki titik optimum pertumbuhan pada masa inkubasi 1 x 24 jam. Pada hari kedua lama masa inkubasi 2 x 24 jam mengalami penurunan daya hambat dan mikroba uji di sekitarnya pertumbuhannya semakin meningkat dan ini menyebabkan nutrisi dalam medium habis dan menyebabkan zona hambat dari hari ke hari semakin mengecil. Hal ini berhubungan dengan teori kurva pertumbuhan dan hubungan peningkatan jumlah sel terhadap lama waktu inkubasi, dan fase pertumbuhan bakteri memiliki empat fase, yaitu fase lag, fase logaritmik (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian. Disebut fase lag karena pada kurun waktu ini merupakan penyesuaian mikroba ke suatu

⁴ M. Natsir Djide dan Sartini, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*(Makassar:Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, 2008), h. 67.

lingkungan baru dan lamanya bergantung pada jenis mikroba, umur biakan dan nutrisi yang ada dalam medium. Pada fase ini tidak ada peningkatan jumlah sel, melainkan peningkatan ukuran dan besar sel. Pada fase logaritmik merupakan periode pembiakan yang lebih cepat. Fase stasioner adalah suatu kultur bakteri yang mencapai fase ini tidak menunjukkan penambahan jumlah sel. Kecepatan tumbuh sama dengan kecepatan kematian sel, sehingga jumlah sel konstan (tetap). Fase kematian (death phase) pada fase ini jumlah bakteri yang mati semakin banyak, dan melebihi jumlah bakteri yang berkembang biak⁵.

Begitu juga dengan pertumbuhan isolate jamur JA₁, yang menunjukkan bahwa dari hari pertama menuju hari ketiga mengalami penurunan fase pertumbuhan pada isolat jamur terhadap bakteri uji. Yang mana dikatakan bahwa terdapat enam fase pertumbuhan diantaranya. Fase lag, yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan, pembentukan enzim-enzim untuk mengurangi substrat. Fase akselerasi, yaitu fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi aktif. Fase eksponensial, merupakan fase perbanyakan jumlah sel yang sangat banyak, aktivitas sel sangat meningkat. Fase deselerasi yaitu sel-sel mulai kurang aktif membelah, kita dapat memanen biomassa sel atau senyawa-senyawa yang tidak lagi diperlukan oleh sel-sel. Fase stasioner, yaitu fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relative seimbang. Fase kematian dipercepat,

⁵ *Locit.* h. 149-155.

yaitu jumlah sel-sel yang mati atau tidak aktif lebih banyak daripada sel-sel yang masih hidup ⁶.

Pada uji biokimia yang dilakukan meliputi uji KIA isolat DA₂ dapat menfermentasi Glukosa, sedangkan untuk DA₃ tidak terjadi fermentasi. Isolat menunjukkan hasil yang negatif dikarenakan tidak terbentuk warna hitam disekitar inokulasi yang disebabkan karena tidak adanya H₂S yang bereaksi dengan ion Fe.

Untuk uji motility, isolat mikroba DA₂ positif yang ditandai dengan adanya pertumbuhan isolate yang menyebar di sekitar daerah tusukan, yang menunjukkan bahwa isolate tersebut bersifat motil, sedangkan untuk DA₃ memberikan hasil yang negative

Uji IMVIC bertujuan membedakan *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli*, yang terdiri dari pengujian Indol-Methyl red-Voges Proskauer-Citrat

Pada uji urea untuk isolate DA₂ dan DA₃ sama-sama menghasilkan hasil yang negatif, karena tidak terjadinya perubahan warna medium merah jingga menjadi ungu

Pada uji Sitrat DA₂ menunjukkan hasil yang positif, sedangkan untuk DA₃ memberikan hasil yang negative, karena tidak menunjukkan adanya perubahan. Yang dikarenakan tidak terjadinya perubahan warna dari hijau menjadi biru yang

⁶ Indrawati Gandjar, Wellyzar Sjamsuridzal dan Ariyanti Oetari, *Mikologi Dasar dan Terapan* (Yayasan Obor Indonesia : Jakarta, 2006), h. 39.

menunjukkan bahwa mikroorganisme mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon

Pada uji MRVP memberikan hasil yang negatif. Pengujian ini bertujuan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran atau fermentasi butanadiol. Methyl-red berwarna merah pada lingkungan pH 4,4 dan berwarna kuning dalam lingkungan dengan pH 6,2. Fermentasi asam campuran ditentukan dengan cara menumbuhkan mikroorganisme dalam kaldu yang mengandung glukosa, dan setelah masa inkubasi menambahkan reagens methyl red ke dalam kaldu. Bila terjadi fermentasi asam campuran kaldu biakan akan tetap berwarna merah. Bila tidak terjadi fermentasi asam campuran kaldu biakan akan tetap berwarna merah. Bila tidak terjadi fermentasi asam campuran maka kaldu biakan berubah menjadi kuning setelah penambahan reagens methyl red. Uji ini sangat berguna dalam identifikasi kelompok bakteri yang menempati saluran pencernaan.

Pada pengujian karbohidrat isolate bakteri DA₂ memberikan hasil positif sedangkan untuk DA₃ hasilnya negatif. Uji dilakukan karena berkemampuan memfermentasikan berbagai karbohidrat dan produk fermentasi yang dihasilkan merupakan ciri yang sangat berguna dalam identifikasi mikroorganisme.

Untuk uji LIA isolat DA₂ memberikan hasil yang negatif, sedangkan untuk isolate DA₃ memberikan hasil yang positif. Uji LIA merupakan dekarboksilase atau penguraian gugus karboksil dari suatu molekul organik dimana lysine merupakan asam amino. Asamnya dihasilkan dalam proses fermentasi glukosa yang akan menurunkan pH media. Dekarboksilase lysine

berlangsung sehingga terjadi pembentukan amino yang menetralkan asam media proses ini terlihat pada perubahan warna dari kuning menjadi ungu.

Uji PAD, menunjukkan reaksi negatif. Pada uji ini terjadi deaminase mengkatalisasi pemindahan gugus amino (NH_3) dari asam amino dan molekul lain yang mengandung NH. Proses deaminase fenil alanin menjadi asam fenil piruvat dan reaksi asam fenil piruvat dengan FeCl_3 akan menjadi hijau.

Dari uji biokimia yang dilakukan dan setelah dicocokkan dengan tabel dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa isolate bakteri dari Tanah yang dapat menunjukkan adanya daya hamabat terhadap bakteri uji yaitu isolate bakteri DA₁, DA₂ dan DA₃, yang mana DA₁ adalah *Bacillus cereus*, DA₂ adalah *Enterobacter sp* dan DA₃ *Acinetobacter sp*. Sedangkan untuk isolate jamur yang diperoleh dari hasil penelitian dengan mengamati morfologi isolat jamur menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri uji yaitu isolat jamur JA₁ adalah *Penicillium sp* yang termasuk ke dalam kelas Ascomycetes atau jamur tingkat tinggi dilihat dari Struktur tubuh bervariasi bersel banyak, miselium bersekat, Pembiakan dengan vegetatif dengan konidia, Secara generatif dengan Askospora yang dibentuk dalam askus, Askus-askus dilindungi tubuh buah yang disebut Askokarp, Pada umumnya bersifat saprofit, ada yg parasit, bentuk permukaan beludru, warna koloni hijau, berbau khas, terdapat growing zone, hifa bersepta, dan dapat membentuk konidiofor, Secara vegetatif dapat berkembang biak dengan potongan hifa.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Tanah Lapangan asal Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kab. Gowa menghasilkan 3 jenis isolat bakteri yang dapat menghasilkan antibiotik yaitu *Bacillus sereus* (Gram positif), *Enterobacter sp* (Gram negatif), *Acinetobacter sp* (Gram negatif). Dan untuk jamur menghasilkan 1 isolat yaitu *Penicillium sp*.

B. Saran

Adapun saran yang diajukan diharapkan agar melakukan penelitian lebih lanjut. Karena penelitian ini merupakan penelitian tahap pendahuluan dalam memperoleh senyawa antibiotik baru.

RIWAYAT HIDUP

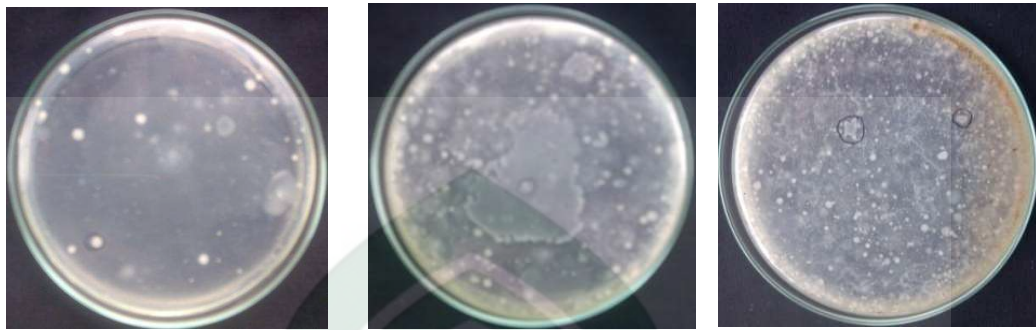


Devi Septiviani, lahir Wotu 16 September 1989 anak pertama dari 4 bersaudara pasangan Heri Siswanto dan Esih Kurniasih. Menamatkan pendidikan di SD negeri 286 Pepuro pada periode 1995-2000, Pondok Pesantren Putri Ummul Mukminin 2001-2007. Melanjutkan pendidikan ke jenjang lebih tinggi dan mengambil program S1 di Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi pada periode 2007 hingga sekarang. Pengalaman berorganisasi pernah menjadi pengurus HMJ (Himpunan Mahasiswa Jurusan) pada periode 2008 dan BEM (Badan Eksekutif Mahasiswa) pada periode 2010. Samapai saat ini tercatat sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
MAKASSAR

Lampiran

Lampiran 1. Isolat mikroba dari tanah pada medium Agar (NA)



A

B

C

Ket : a. Pengenceran 10^{-1}

b. Pengenceran 10^{-2}

c. Pengenceran 10^{-3}

Lampiran 1.2. Isolat mikroba pada medium PDA



A

B

C

Ket : A. Pengenceran 10^{-1}

B. Pengenceran 10^{-2}

C. Pengenceran 10^{-3}

Lampiran 2. Pemurnia mikroba pada medium selektif



Medium BA

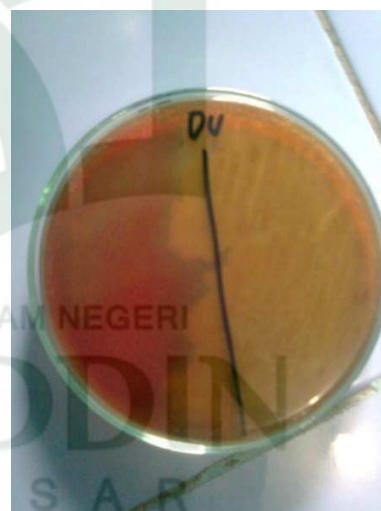


Medium MCA

Lampiran 3. Foto isolat murni pada Medium Agar Miring dan Metode Kuadran



A

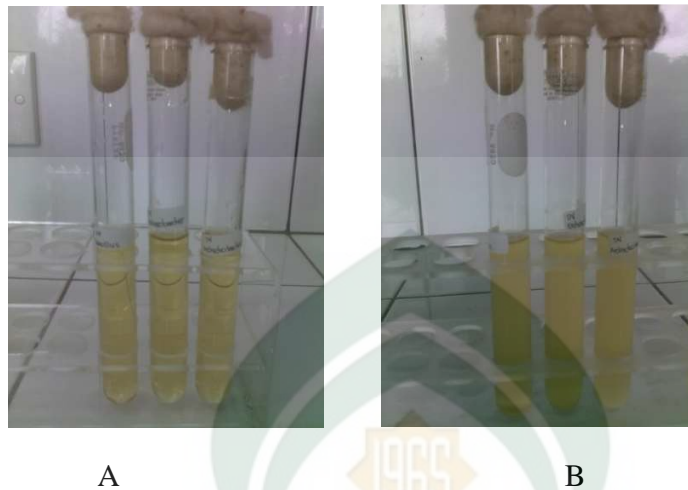


B

Ket : A. Isolat murni pada medium KIA

B. Isolat murni pada medium selektif BA

Lampiran 4. Foto Isolat pada medium MYB untuk Bakteri



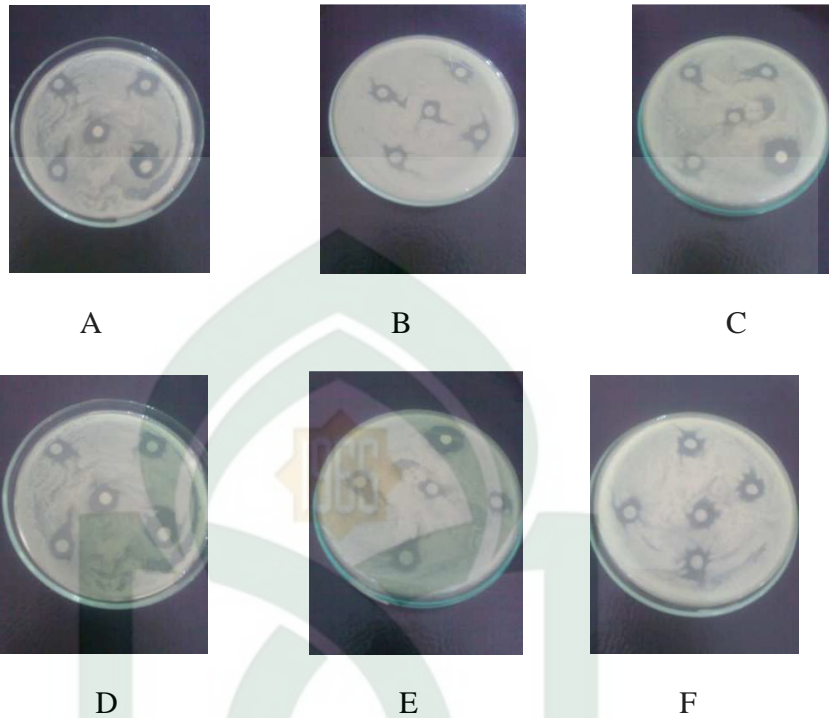
Lampiran 5. Foto Isolat pada medium MYB untuk Jamur



Ket : A. Isolat pada medium MYB yang belum di fermentasi

B. Isolat pada medium MYB yang telah di fermentasi

Lampiran 6. Foto hasil pengujian daya hambat pada hari 1 (1 x 24 jam) untuk Bakteri



Ket : A. *S. aureus* – DA₁ D. *E. coli* – DA₁
 B. *S. aureus* – DA₂ E. *E. coli* – DA₂
 C. *S. aureus* – DA₃ F. *E. coli* – DA₃

Lampiran 7. Foto hasil pengujian daya hambat pada hari 2 (2 x 24 jam) untuk Bakteri





D



E



F

Ket : A. *S. aureus* – DA₁

D. *E. coli* – DA₁

B. *S. aureus* – DA₂

E. *E. coli* – DA₂

C. *S. aureus* – DA₃

F. *E. coli* – DA₃

Lampiran 7. Foto hasil pengujian daya hambat pada hari 3 (3 x 24 jam) untuk Bakteri



A



B



C



D



E



F

Ket : A. *S. aureus* – DA₁

D. *E. coli* – DA₁

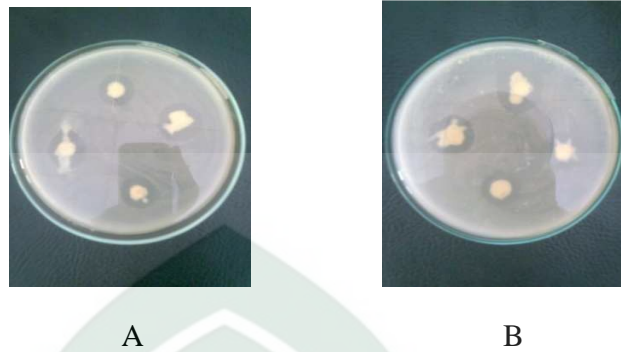
B. *S. aureus* – DA₂

E. *E. coli* – DA₂

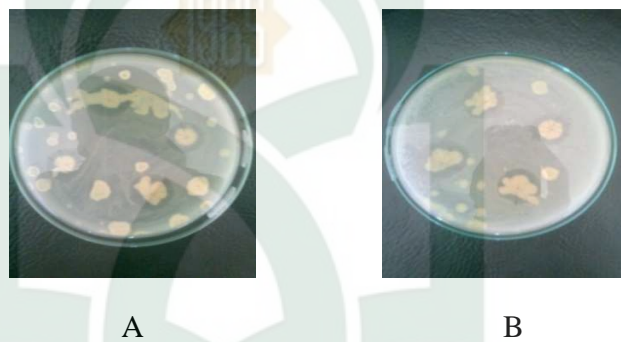
C. *S. aureus* – DA₃

F. *E. coli* – DA₃

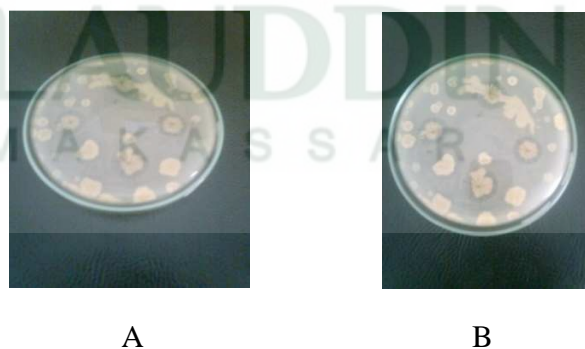
Lampiran 8. Foto hasil pengujian daya hambat pada hari 1 (1 x 24 jam) untuk Jamur



Lampiran 9. Foto hasil pengujian daya hambat pada hari 2 (2 x 24 jam) untuk jamur



Lampiran 10. Foto hasil pengujian daya hambat pada hari 3 (3 x 24 jam) untuk jamur



Ket : A. *S. aureus* – JA₁

B. *E. coli* – JA₁

Gambar 8. Foto hasil pengujian Biokimia isolat dari Tanah



Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat dari hasil fermentasi isolate bakteri dari tanah lapangan Asal kampus 2 UIN Alauddin Samata Kab. Gowa terhadap bakteri uji.

Hari Pertama

Isolat Bakteri	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata-Rata (\bar{x})
		Replikasi					
		1	2	3	4	5	
DA ₁	S. aureus	1,66	0,99	1,32	1,26	1,05	1,25
	E. coli	2,57	2,41	2,56	2,18	3,16	2,57
DA ₂	S. aureus	1,35	1,29	1,11	1,21	1,24	1,24
	E. coli	2,27	1,37	1,27	1,27	2,11	1,65
DA ₃	S. aureus	1,61	0,37	1,37	1,32	0,95	1,12
	E. coli	3,56	2,98	3,55	2,75	2,91	3,15

Hari Kedua

Isolat Bakteri	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata-Rata (\bar{x})
		Replikasi					
		1	2	3	4	5	
DA ₁	S. aureus	1,34	1,18	1,20	1,42	1,25	1,27
	E. coli	1,3	2,00	1,73	1,30	2,67	1,8
DA ₂	S. aureus	1,15	1,30	2,20	1,13	1,24	1,20
	E. coli	1,24	1,07	0,60	0,74	0,62	0,85
DA ₃	S. aureus	1,23	1,05	1,25	1,73	1,25	1,30
	E. coli	2,85	2,05	2,35	2,35	2,15	2,35

Hari Ketiga

Isolat Bakteri	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata-Rata (\bar{x})
		Replikasi					
		1	2	3	4	5	
DA ₁	S. aureus	1,25	-	-	-	1,28	0,50
	E. coli	-	-	-	-	-	-
DA ₂	S. aureus	-	0,19	-	-	-	0,03
	E. coli	1,46	1,65	-	1,19	1,80	1,22
DA ₃	S. aureus	-	-	0,95	-	-	0,19
	E. coli	2,20	2,50	2,82	2,22	2,27	2,40

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat dari hasil fermentasi isolate jamur dari tanah lapangan Asal kampus 2 UIN Alauddin Samata Kab. Gowa terhadap bakteri uji.

Isolat Jamur	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-Rata (\bar{x})
		Replikasi				
JA ₁	S. aureus	1.17	1.85	1.22	1.36	1.4
	E. coli	1.29	1.9	1.69	1.91	1.69
JA ₂	S. aureus	1,17	0,75	0,88	0,93	0,93
	E. coli	1,06	0,81	0,79	1,11	0,94
JA ₃	S. aureus	0,83	0,7	0,72	0,72	0,74
	E. coli	0,85	0,89	0,77	0,8	0,82

Tabel 3. Hasil Pemurnian Isolat Mikroba dari Tanah Lapangan Kampus 2 UIN Samata Kab.Gowa

No.	Kode Bakteri dan Jamur	Biakan Bakteri
1.	DA ₁	Isolat Bakteri 1
2.	DA ₂	Isolat Bakteri 2
3.	DA ₃	Isolat Bakteri 3
4.	JA ₁	Isolat Jamur 1
5.	JA ₂	Isolat Jamur 2
6.	JA ₃	Isolat Jamur 3

Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Hambat dari Hasil Fermentasi Isolat Bakteri dari Tanah Lapangan Asal Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kab. Gowa Terhadap Bakteri Uji.

Isolat Bakteri	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambatan (mm)		
		Hari 1	Hari 2	Hari 3
DA ₁	<i>S. aureus</i>	0,75	0,68	0,29
	<i>E. coli</i>	2,04	1,27	-
DA ₂	<i>S. aureus</i>	0,71	0,67	0,03
	<i>E. coli</i>	1,13	0,79	0,32
DA ₃	<i>S. aureus</i>	0,79	0,77	0,08
	<i>E. coli</i>	2,62	1,87	1,82

Tabel 5. Hasil Pengukuran Zona Hambat dari Hasil Fermentasi Isolat Bakteri dari Tanah Lapangan Asal Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kab. Gowa Terhadap Bakteri Uji.

Isolat Jamur	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambatan (mm)		
		Hari 1	Hari 2	Hari 3
JA ₁	<i>S. aureus</i>	1,4	0,93	0,74
	<i>E. coli</i>	1,69	0,94	0,82

Keterangan :

DA₁ = Isolat Bakteri 1

DA₂ = Isolat Bakteri 2

DA₃ = Isolat Bakteri 3

JA₁ = Isolat Jamur 1

SA = *Staphylococcus aureus*

EC = *Escherichia coli*

Tabel 6. Hasil pengecatan Gram mikroba Tanah asal Lapangan Kampus UIN Alauddin Samata Kab. Gowa

NO.	Kode Sampel	Pengecatan Gram		
		Warna	Bentuk	Keterangan
1.	DA ₁	Ungu	Basil	Positif
2.	DA ₂	Merah	Kokoid	Negatif
3.	DA ₃	Merah	Basil	Negatif

Tabel 7. Hasil Pengujian Aktivitas Biokimia Mikroba

Uji Biokimia	DA ₂	DA ₃
KIA	AL/A +/-	AL/AL -/-
Motility	+	-
Indol	-	-
Ornitri	+	-
Urea	-	-
Citrat	+	+
MR	-	-
VP	-	-
Glukosa	+	-
Lactosa	-	-
Sucrosa	+	-
Maltosa	+	-
Manitol	+	-
Malonat	-	-
LIA	-	+
3S	-	-
O	-	-
F	-	-
PAD	-	-
Species	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>

Keterangan :

(+) = Positif

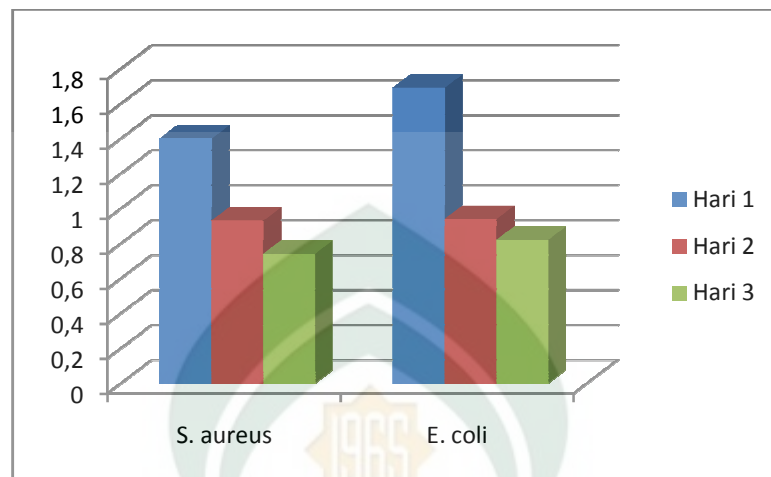
(-) = Negatif

V = Variabel (tidak positif dan tidak negative)

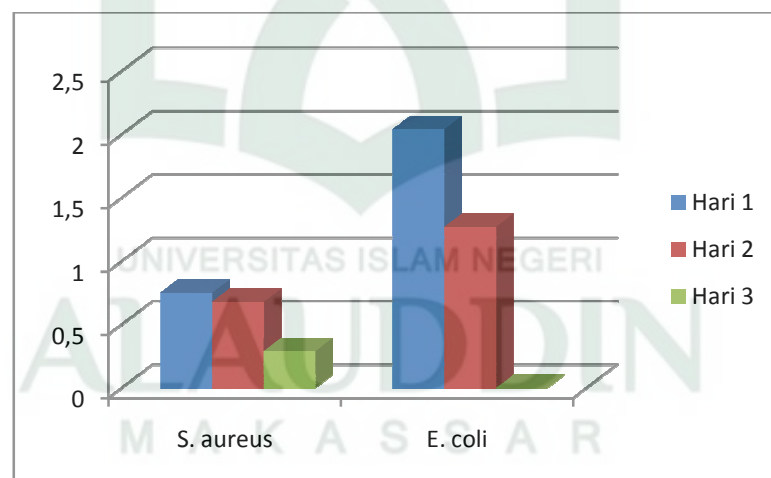
AL/A = Menfermentasi Glukosa

AL/AL = Tidak terjadi fermentasi

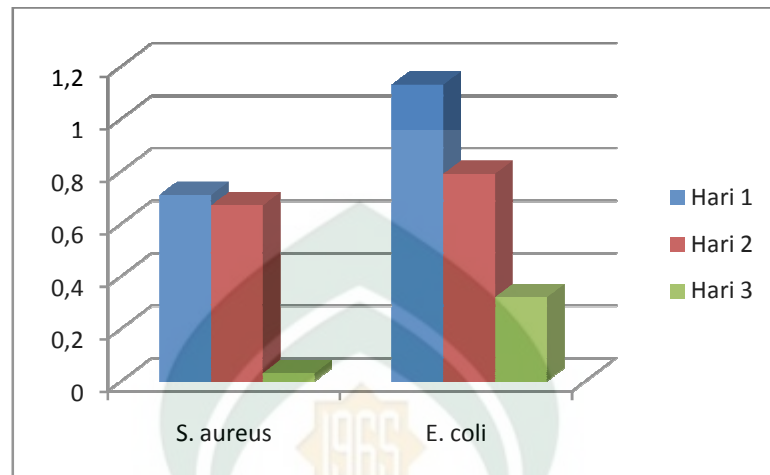
Grafik 1. Histogram Zona Hambat dari Jamur JA₁



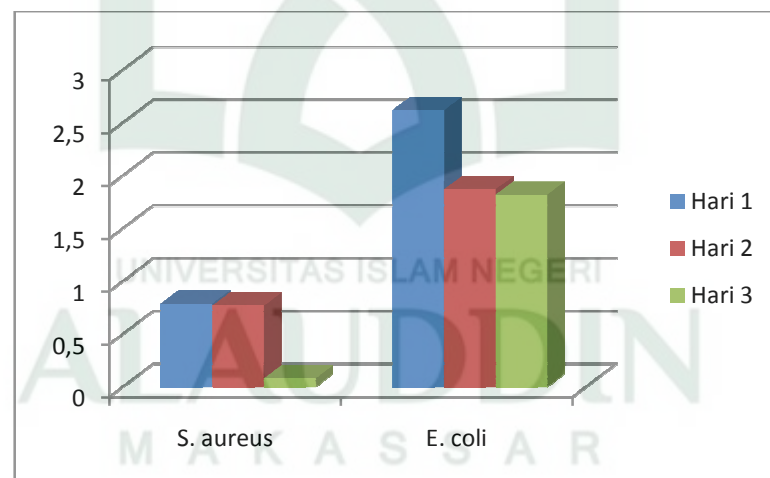
Grafik 2. Histogram Zona Hambat dari Bakteri DA₁



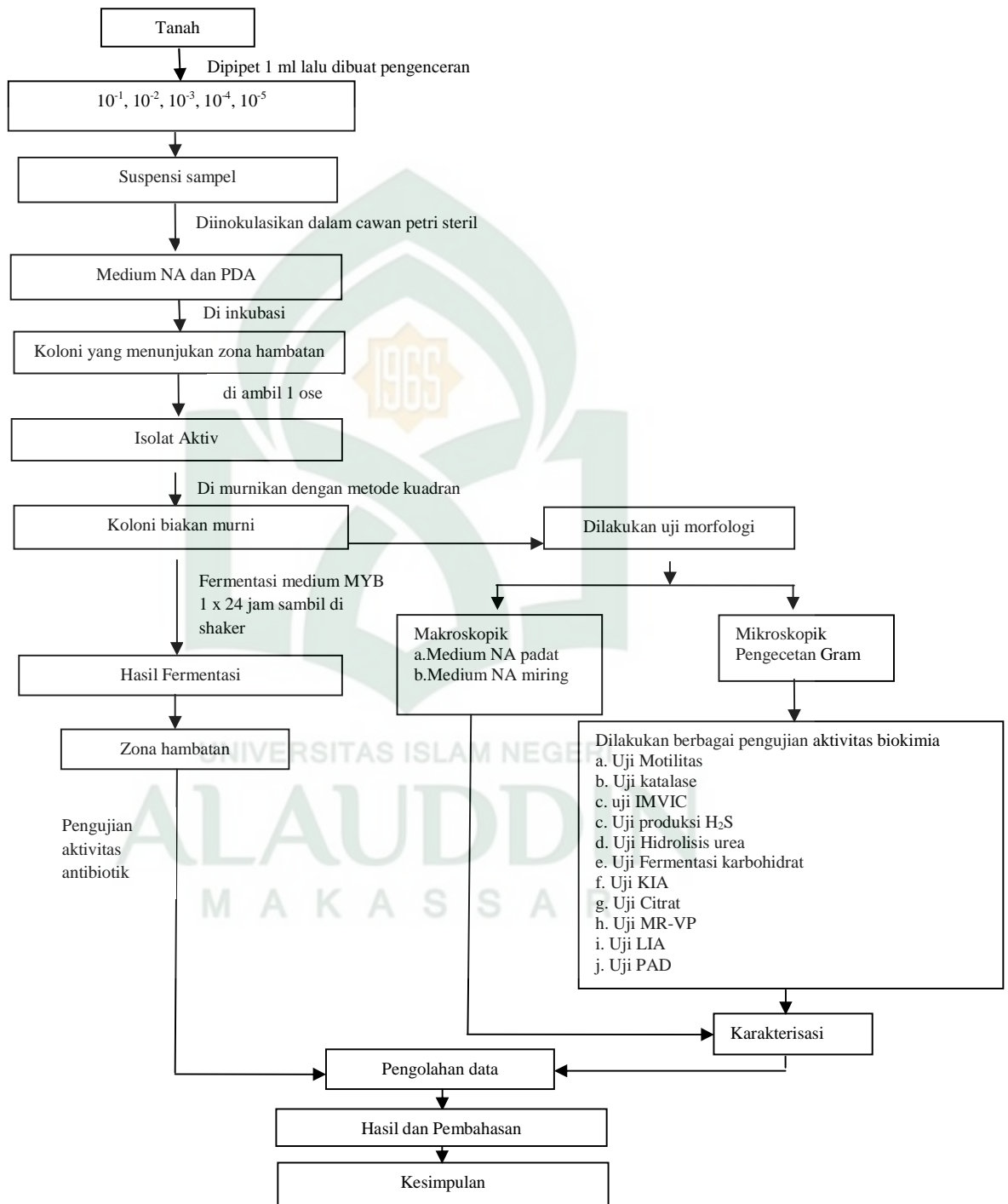
Grafik 3. Histogram Zona Hambatan dari Bakteri DA₂



Garfik 4. Histogram Zona Hambat dari Bakteri DA₃



**Lampiran 1. Skema kerja Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotik Dari Tanah
Kampus 2 UIN Alauddin Samata Kabupaten Gowa**



DAFTAR PUSTAKA

- Ali, Alimuddin, 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Badan Penerbit UNM: Makassar.
- Arifa, Helmi, 1994. *Isolasi Bakteri Dan Jamur Tanah Penghasil Antibiotik*. FMIPA Unand : Sumatera Barat.
- Bibiana W, L., 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*, PT., Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan: Malang.
- Djide, M. Natsir Djide dan Sartini, 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Djide, M. Natsir Djide, Sartini dan H. Syahrudin Kadir, 2006. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Djide, M. Natsir dan Sartini, 2010. *Mikrobiologi klinik*. Fakultas Farmasi Unhas: Makassar.
- Gandjar, Indrawati, 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia: Jakarta.
- Hanifah Kemas Ali, A. Napoleon dan Nuni Ghofar, 2005. *Biologi Tanah Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Rajagrafindo Persada: Jakarta.
- Hanifah Kemas Ali, 2005. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Rajagrafindo Persada: Jakarta.
- Irianto Koes, 2006. *Mikrobiologi; Mengungkap Dunia Mikroorganisme*. CV. Yrama Widya: Bandung.
- Jawets, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika: Jakarta.
- Junaidi. W., 2009. *Mikroorganisme Penghasil Antibiotik Bakteri*. Blogspot tutorial. Lampung. Di akses 25 desember 2010.

- Mulyani Mul Sutedjo dan A.G. Kartasapoetra, 2005. *Pengantar Ilmu Tanah*. PT. Rineka Cipta: Jakarta.
- Pelczar, Michael J. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia: Jakarta.
- Suwandi, usman “Mikroorganisme Penghasil Antibiotik”, <http://www.kalbeFarma.com>
- Salle , A. J. (1961) *Fundamental Principles of Bacteriology*, 5th edition. Mc Graw Hill Company, New York.
- Tambayong Jan, 1999. *Mikrobiologi Untuk Keperawatan*. PT. Widya Medika: Jakarta
- Waluyo Lud, 2008. *Teknik Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. Universitas Muhammadiyah Malang: Malang.
- Waluyo Lud, 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Universitas Muhammadiyah Malang: Malang.